



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA E DO VÍRUS  
DA LEUCEMIA FELINA EM GATOS ERRANTES E ASSILVESTRADOS  
DA ILHA DE SÃO MIGUEL, AÇORES**

SÍLVIA MARIA ALMEIDA BOTELHO

**CONSTITUIÇÃO DO JÚRI**

Doutora Yolanda Maria Vaz

Doutor Virgílio da Silva Almeida

Doutora Solange Judite Roque

Coelho Alves Gil

**ORIENTADOR**

Dr.<sup>a</sup> Maria Johanna Petronella

Elisabeth Obels

**CO-ORIENTADOR**

Doutor Virgílio da Silva Almeida

2014

LISBOA

---





UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA E DO VÍRUS  
DA LEUCEMIA FELINA EM GATOS ERRANTES E ASSILVESTRADOS  
DA ILHA DE SÃO MIGUEL, AÇORES**

SÍLVIA MARIA ALMEIDA BOTELHO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**CONSTITUIÇÃO DO JÚRI**

Doutora Yolanda Maria Vaz

Doutor Virgílio da Silva Almeida

Doutora Solange Judite Roque

Coelho Alves Gil

**ORIENTADOR**

Dr.<sup>a</sup> Maria Johanna Petronella

Elisabeth Obels

**CO-ORIENTADOR**

Doutor Virgílio da Silva Almeida

2014

LISBOA

---



*Ao meu pai, José Alberto Correia Botelho*

*À minha mãe, Maria Júlia Botelho*

*Ao meu irmão, Miguel Botelho*

*«Não tenha medo de pensar diferente dos outros,  
tenha medo de pensar igual e descobrir que todos estão errados.»*

*Eça de Queirós*





## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à Dr.<sup>a</sup> Maria Johanna Obels por ter aceitado orientar o meu estágio. À restante equipa médica, Dr.<sup>a</sup> Carla Costa e Dr.<sup>a</sup> Laura Faria e Maia, por todos os conhecimentos teóricos e práticos transmitidos e pelo exemplo de conduta profissional e de ótima relação com as pessoas, um muito obrigado!

Ao Professor Doutor Virgílio Almeida, meu coorientador neste trabalho, pelas valiosas sugestões, críticas e apoio em todo o processo de reflexão e de construção desta dissertação de mestrado.

Agradeço à Câmara Municipal de Ponta Delgada e respetivo Canil pela autorização de recolha de sangue. Um muito obrigado ao Dr. Vergílio Oliveira e ao funcionário Nuno pelo apoio incansável e paciência que tiveram comigo, sem eles esse trabalho não teria sido operacionalizado.

Gostaria ainda de agradecer ao Laboratório dos Serviços de Desenvolvimento Agrário de São Miguel por terem autorizado a conservação das amostras.

Agradeço o apoio do Dr. Francisco Teves, proprietário da Clínica Veterinária de Vila Franca do Campo e à Sofia Lima, responsável pelo núcleo da Associação Animais de Rua em São Miguel, por terem permitido a colheita de amostras nos “seus” gatos.

Ao Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal (CIISA) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, cujo apoio financeiro foi fulcral para a realização da componente laboratorial deste trabalho.

Agradeço à Professora Doutora Ana Duarte, pela simpatia e supervisão da execução da componente laboratorial deste trabalho.

Gostaria de agradecer a toda equipa médica e auxiliar do Hospital Veterinário das Laranjeiras por me ter recebido de braços abertos e ter partilhado comigo a sua sabedoria. Com eles aprendi a tratar de cada animal como se fosse nosso, proporcionando qualidade nos cuidados clínicos e carinho a qualquer hora do dia ou da noite. E claro que não podia deixar de agradecer também ao grupo de estagiários do qual fiz parte, Carolina, Mariana, Miguel e Sandra, sem vocês não teria sido a mesma coisa, obrigada pelo vosso grande apoio.



Quero agradecer aos meus pais, pois sem eles não teria sido mesmo possível realizar esse meu sonho de criança. Miguel, apesar de não gostares do meu ramo profissional, também és uma peça importante para que isso funcione, pois também és um pilar muito importante na minha vida. Amo-vos!

Não posso deixar de agradecer à minha família (padrinhos, tios, tias e primos) pela força que me dão e por estarem sempre presentes e prontos a dar um abraço. Obrigado!

Agradeço à Dra. Fátima Ponte e ao Sr. Alcides Couto pelo apoio e força que me deram ao longo destes últimos 8 anos da minha vida. Muito Obrigado!!

Agradeço a ti Edgar por estes 6 anos de curso teres estado sempre do meu lado, de teres sido amigo, companheiro, conselheiro, confidente, ... Agradeço pelos bons momentos, passeios e viagens maravilhosas que tivemos. Sem ti talvez essa caminhada fosse um pouco mais difícil.

Quero agradecer aos meus grandes amigos Hugo e Luís, pelo grande apoio que me deram ao longo dessa grande jornada de 6 anos. Obrigada por vezes terem acreditado mais em mim do que eu própria.

Ao “grupo dos açorianos”, Dani, Padrinho, Marilu, Sissona e Sofi pela amizade construída ao longo desses 6 anos de curso em que aprendemos uns com os outros no meio de risadas, jantaras, trabalhos, noitadas, discussões, descobertas, ...

## RESUMO

### ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA E DO VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA EM GATOS ERRANTES E ASSILVESTRADOS DA ILHA DE SÃO MIGUEL, AÇORES

O vírus da Leucemia Felina (FeLV) e o vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) pertencem à família *Retroviridae*. São responsáveis por duas viroses que ameaçam a vida e o bem-estar do gato doméstico, e a conservação de felinos silvestres como o lince da Península Ibérica.

O principal objetivo deste estudo epidemiológico foi detetar a presença do FIV e do FeLV em gatos residentes na ilha de São Miguel, Açores.

A amostra foi constituída por 90 gatos selecionados em grupos de risco elevado ou com sinais clínicos compatíveis com estas viroses, maioritariamente gatos errantes (84,4%) e assilvestrados (11,1%) que foram capturados para serem esterilizados e integrarem programas de adoção ou de restituição ao habitat.

Através do teste ELISA, ViraCHECK®FIV para pesquisa de anticorpos, obtivemos uma prevalência real de 14,2% de FIV na nossa amostra.

Com o teste ELISA, ViraCHECK®FeLV para pesquisa de antígeno, obtivemos uma prevalência real de 0,6% de FeLV na nossa amostra.

Esta é a primeira publicação científica que demonstra a presença destes vírus na população felina da ilha de São Miguel.

O perfil do gato infetado com FIV na amostra investigada é um gato macho, inteiro, de condição de vida livre, com um comportamento agressivo ou nervoso, com um ou mais linfonodos superficiais hipertrofiados e com gengivo-estomatite.

A discussão dos resultados é feita à luz das frequências de infecção de FIV e de FeLV detetadas noutras ilhas do globo. Finalmente propõem-se medidas de controlo e de prevenção para mitigar a incidência de FIV e de FeLV e para delimitar a dispersão geográfica destas viroses na ilha de São Miguel.

**Palavras-chave:** Vírus da Imunodeficiência Felina, Vírus da Leucemia Felina, Gatos Errantes, Gatos Assilvestrados, Ilha de São Miguel, Açores.



## ABSTRACT

### EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF FELINE IMMUNODEFICIENCY VIRUS AND FELINE LEUKEMIA VIRUS IN STRAY CATS AND FERAL CATS OF THE SÃO MIGUEL ISLAND, AZORES

The feline leukemia virus (FeLV) and the feline immunodeficiency virus (FIV) are two viruses of the *Retroviridae* family. They are a major threat to the life and welfare of the domestic cat, and to the success of wildlife feline species conservation programs such as the Iberian lynx at the Iberian Peninsula.

The main aim of this epidemiological study was to confirm the presence of FIV and FeLV in a sample of stray and feral cats of São Miguel Island in the archipelago of Azores.

Ninety cats were sampled, mainly stray cats (84.4%) and feral cats (11.1%), during field operations of a trap, neuter and release or adoption program.

The presence of FIV was confirmed by the ELISA test ViraCHECK®FIV. The true prevalence obtained was 14.2%.

The presence of FeLV was also confirmed by the ELISA test ViraCHECK®FeLV. The true prevalence obtained was 0.6%.

This is the first scientific communication of the presence of these viruses on the feline population of the island.

The profile of the FIV infected cat is an intact male, free-roaming, with aggressive or nervous behavior, with one or more superficial lymph nodes hypertrophied and with signs of gingivostomatitis.

The discussion is made by the light of the prevalence of FIV and FeLV reported on other islands in the world. Finally disease control and prevention measures are proposed to mitigate the incidence of FIV and FeLV and to restrict the geographical dispersion of these viruses in the island of São Miguel.

**Key-words:** Feline Immunodeficiency Virus, Feline Leukemia Virus, Stray Cats, Feral Cats, São Miguel Island, Azores



## ÍNDICE GERAL

Agradecimentos.....	i
Resumo .....	iii
Abstract .....	v
Índice geral .....	vii
Índice de tabelas.....	x
Índice de figuras .....	xi
Índice de gráficos.....	xi
Lista de abreviaturas.....	xii
<b>Capítulo I – Atividades Desenvolvidas.....</b>	<b>1</b>
1. Atividades realizadas antes do estágio curricular .....	1
2. Descrição das atividades realizadas durante o estágio curricular.....	1
<b>Capítulo II – Revisão Bibliográfica .....</b>	<b>5</b>
1. Introdução.....	5
2. Imunodeficiência Felina .....	6
2.1. Etiologia .....	6
2.2. Epidemiologia.....	8
2.2.1. Transmissão .....	9
2.3. Patogenia da infecção e Imunidade .....	11
2.4. Apresentação clínica .....	14
2.5. Diagnóstico laboratorial.....	17
2.5.1. Detecção do antígeno .....	17
2.5.2. Detecção de anticorpos .....	18
2.6. Tratamento.....	20
2.6.1. Tratamento de suporte .....	21
2.6.2. Tratamento específico.....	22
2.6.3. Imunomoduladores e Indutores do interferão .....	23
2.7. Prognóstico .....	25
2.8. Prevenção e Controlo.....	25
2.8.1. Vacinação .....	28
2.9. Importância na Saúde Pública.....	29
3. Leucemia Felina.....	31
3.1. Etiologia .....	31
3.2. Epidemiologia.....	32
3.2.1. Transmissão .....	33
3.3. Patogenia da infecção e Imunidade .....	35
3.4. Apresentação clínica .....	39
3.5. Diagnóstico laboratorial.....	44
3.5.1. Detecção de antígeno .....	44
3.5.2. Detecção de anticorpos .....	47

3.6. Tratamento.....	47
3.6.1. Tratamento de suporte .....	48
3.6.2. Tratamento antiviral.....	49
3.6.3. Imunomoduladores e Indutores do interferão .....	49
3.7. Prognóstico .....	50
3.8. Prevenção e Controlo.....	50
3.8.1. Vacinação .....	52
3.9. Importância na Saúde Pública.....	53
<b>Capítulo III – Estudo Epidemiológico .....</b>	<b>55</b>
1. Objetivos .....	55
2. Material e Métodos .....	55
2.1. Tipo de estudo .....	55
2.2. Método de amostragem.....	55
2.3. Tamanho da amostra .....	55
2.4. Critério de inclusão de animais na amostra .....	56
2.5. Período de estudo .....	57
2.6. Entidades parceiras.....	57
2.6.1. Canil Municipal de Ponta Delgada.....	57
2.6.2. Associação Animais de Rua.....	58
2.6.3. AVIGEX - Sociedade de Empreendimentos Avícolas e de Frio .....	58
2.6.4. Clínicas Veterinárias Privadas.....	59
2.7. Colheita, acondicionamento e envio das amostras.....	59
2.8. Ficha para recolha de dados dos pacientes .....	60
2.9. Base de dados para armazenamento e análise estatística de dados .....	61
2.10. Métodos de diagnóstico laboratorial .....	61
3. Resultados .....	63
3.1. Local de captura.....	63
3.2. Parceiros.....	63
3.3. Raça.....	64
3.4. Sexo.....	64
3.5. Idade .....	65
3.6. Condição de vida.....	65
3.7. Condição corporal .....	65
3.8. Sinais clínicos .....	66
3.8.1. Prostração.....	66
3.8.2. Hipertrofia dos linfonodos.....	66
3.8.3. Presença de feridas e/ou de cicatrizes .....	66
3.8.4. Coloração das mucosas .....	67
3.8.5. Presença de corrimentos e alterações oculares .....	67
3.8.6. Presença de corrimentos nasais .....	68
3.8.7. Presença concomitante de corrimentos oculares e nasais .....	68

3.8.8. Presença de sinais respiratórios .....	68
3.8.9. Presença de gengivo-estomatite .....	69
3.8.10. Síntese dos sinais clínicos observados.....	69
3.9. FIV .....	70
3.10. FeLV .....	70
3.11. Investigação de características intrínsecas e extrínsecas associada aos diagnósticos positivos de FIV .....	71
4. Discussão .....	73
<b>Capítulo IV - Conclusões e Recomendações.....</b>	<b>81</b>
Bibliografia.....	83
Anexos .....	89



## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Casuística das consultas assistidas .....	2
Tabela 2: Casuística de cirurgias assistidas.....	3
Tabela 3: Concelho de captura/recolha de gatos .....	63
Tabela 7: Gatos capturados/recolhidos pelos parceiros do estudo .....	64
Tabela 4: Distribuição de sexos na amostra.....	64
Tabela 5: Proporção de animais castrados na amostra .....	64
Tabela 6: Estilo de vida dos gatos incluídos na amostra .....	65
Tabela 8: Avaliação da condição corporal dos gatos da amostra.....	65
Tabela 9: Avaliação do sinal clínico: prostração.....	66
Tabela 10: Avaliação do sinal clínico: hipertrofia dos linfonodos .....	66
Tabela 11: Avaliação do sinal clínico: presença de feridas e/ou cicatrizes .....	67
Tabela 12: Avaliação do sinal clínico: coloração das mucosas .....	67
Tabela 13: Avaliação do sinal clínico: presença de corrimentos oculares .....	67
Tabela 14: Avaliação do sinal clínico: presença de alterações oculares .....	67
Tabela 15: Avaliação do sinal clínico: presença de corrimentos nasais .....	68
Tabela 16: Presença concomitante de corrimentos oculares e nasais .....	68
Tabela 17: Ausência concomitante de corrimentos oculares e nasais.....	68
Tabela 18: Avaliação de sinais respiratórios .....	68
Tabela 19: Avaliação do sinal clínico: gengivo-estomatite.....	69
Tabela 20: Frequência de sinais clínicos na amostra de gatos investigados.....	69
Tabela 21: Proporção de gatos FIV positivos.....	70
Tabela 22: Proporção de gatos FeLV positivos.....	70
Tabela 23: Identificação de fatores de risco para FIV .....	71
Tabela 24: Associação estatística entre os sinais clínicos observados na amostra de gatos e a ocorrência de FIV.....	71
Tabela 25: Frequência de FIV e de FeLV em cinco ilhas .....	76

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ilha de São Miguel. Localização do local do estágio .....	1
Figura 2: Imagem esquemática de um retrovírus .....	7
Figura 3: Organização genómica do FIV .....	7
Figura 4: Distribuição global dos subtipos de FIV .....	9
Figura 5: Ciclo de replicação do retrovírus.....	12
Figura 6: Esquema da morfologia do FeLV .....	31
Figura 7: Mapa genómico do género $\gamma$ -retrovírus e lentivírus .....	32
Figura 8: Canil de Ponta Delgada .....	57
Figura 9: Representação da área que o Concelho de Ponta Delgada abrange na Ilha de São Miguel.....	58
Figura 10: Gaiola utilizada para capturar os gatos assilvestrados da colónia presente no perímetro das instalações da AVIGEX.....	59
Figura 11: Gatos capturados na colónia da AVIGEX.....	59
Figura 12: Resultados obtidos das amostras 81 à 87 ao teste de FIV, com os controlos positivo e negativo .....	62
Figura 13: Resultados obtidos das amostras 81 à 87 ao teste do FeLV com os controlos positivo e negativo .....	62

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Evolução temporal da infeção por FIV .....	12
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS

AAR – Associação Animais de Rua  
ABCD – *European Advisory Board on Cat Disease*  
Ac – Anticorpos  
AIE's – Anti-inflamatórios esteroides  
AST – Aspartato aminotransferase  
AVIGEX – Sociedade de Empreendimentos Avícolas e de Frio, Lda.  
AZT – 3'-azido-2',3'-dideoxitimidina; azidotimidina; zidovudina  
CA – Cápside  
C.I.I.S.A. – Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal  
CRO – Centro de Recolha Oficial de Animais de Companhia de Ponta Delgada  
DNA – Ácido Desoxirribonucleico (*Desoxyribonucleic Acid*)  
ELISA – *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*  
enFeLV – Vírus da Leucemia Felina Endógeno  
EPO – Eritropoietina  
FAIDS – Síndrome de imunodeficiência adquirida felina (*Feline Acquired Immune Deficiency Syndrome*)  
FCV – Calicivírus Felino (*Feline Calicivirus*)  
FeLV – Vírus da Leucemia Felina (*Feline Leukemia Virus*)  
FeSV – Vírus do Sarcoma Felino (*Feline Sarcoma Virus*,)  
FHV – Herpesvírus Felino (*Feline Herpesvirus*)  
FIV – Vírus da Imunodeficiência Felina (*Feline Immunodeficiency Virus*)  
gp – Glicoproteína (s)  
gpSU – glicoproteína de superfície  
gpTM – glicoproteína transmembranária  
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana (*Human Immunodeficiency Virus*)  
HV – Hospital Veterinário  
IF – Imunofluorescência  
IFI – Imunofluorescência indireta  
IFN – Interferão (*Interferon*)  
IFN- $\alpha$  – Interferão Alfa  
IFN- $\gamma$  – Interferão Gama  
IGF-1 – Fator de Crescimento semelhante à Insulina-1 (*Insulin-like Growth Factor-1*)  
IL – Interleucinas  
IM – Via intramuscular  
IN – Integrase  
IV – Via endovenosa

GECF – Gengivo-Estomatite Crônica Felina  
LTR – Regiões terminais repetidas (*Long Terminal Repeat*)  
MA – Matriz  
MO – Medula Óssea  
mRNA – RNA mensageiro  
NaCl – Cloreto de Sódio  
NC – Nucleocápside  
PDL – Concelho de Ponta Delgada  
PCR – Reação em cadeia da polimerase (*Polymerase Chain Reaction*)  
PO – *per os*; por via oral  
PR – Protease  
PT – Proteínas totais  
q – cada  
rFeIFN- $\omega$  – Interferão Omega Recombinante Felino (*Recombinant Feline Interferon-Omega*)  
rHu-EPO – Eritropoietina Recombinante Humana (*Recombinant Human Erythropoietin*)  
rHuIGF-1 – Fator de crescimento semelhante à insulina-1 recombinante humano (*Recombinant Human Insulin Like Growth Factor-I*)  
rHuG-CSF – Fator de Estimulação de Colônias de Granulócitos Recombinante Humano (*Recombinant Human Granulocyte Colony-Stimulation Factor*)  
RNA – Ácido Ribonucleico (Ribonucleic Acid)  
RT – Transcriptase Reversa (*Reverse Transcriptase*)  
SC – via subcutânea  
SNC – Sistema Nervoso Central  
TNF- $\alpha$  – Fator de necrose tumoral alfa (*Tumor Necrosis Factor Alfa*)  
t-RNA – RNA transferase  
UI – Unidade Internacional  
USA – Estados Unidos da América  
 $\mu$ g – Micrograma  
 $\gamma$  – gama



## CAPÍTULO I – ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

### 1. ATIVIDADES REALIZADAS ANTES DO ESTÁGIO CURRICULAR

Antes de começar o meu estágio curricular optei por realizar um estágio profissionalizante extracurricular no Hospital Veterinário das Laranjeiras em Lisboa, sob a supervisão do Dr. Luís Cruz.

O estágio iniciou-se no dia 3 de Setembro de 2012 e terminou no dia 8 de Março de 2013. A carga horária foi de 40 horas semanais, durante 6 meses consecutivos. Integrei um grupo de estagiários onde cumpríamos turnos rotativos semanais (manhã, tarde, noite e fins-de-semana).

No estágio colaborei nos serviços de consultas de medicina e cirurgia, emergências e cuidados intensivos. Também assisti à preparação de salas para procedimentos de sedação, anestesia e cirurgia, protocolos de anestesia e analgesia, internamento e medicina interna, serviço de imagiologia (ecografia, radiologia e endoscopia), serviço de laboratório e de análises clínicas, formação interna, tarefas de gestão de procedimentos e trabalho administrativo de apoio à atividade clínica.

Este estágio permitiu-me aplicar e desenvolver os conhecimentos teóricos e práticos adquiridos no Mestrado Integrado em Medicina Veterinária (MIMV) como me possibilitou conhecer novas abordagens na área clínica. Com a ajuda de toda a equipa, reforcei as minhas competências clínicas e desenvolvi uma conduta profissional exemplar e uma boa relação com os clientes essencial para o meu futuro profissional.

### 2. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O ESTÁGIO CURRICULAR

O meu estágio curricular do MIMV foi realizado na Clínica Veterinária de Santana, situada na freguesia de Rabo de Peixe, cidade da Ribeira Grande, na ilha de São Miguel, Açores (Figura 1).

**Figura 1:** Ilha de São Miguel. Localização do local do estágio (<https://maps.google.pt/>)



O estágio teve uma duração de três meses e meio, com início no dia 25 de Março de 2013 e final no dia 12 de Julho de 2013.

A supervisão e coordenação das atividades efetuadas estiveram a cargo da Dr.<sup>a</sup> Maria Johanna Obels, orientadora do estágio, bem como da Dr.<sup>a</sup> Laura Faria e Maia e da Dr.<sup>a</sup> Carla Costa, da equipa médica da Clínica de Santana.

A Clínica tem serviço de atendimento permanente durante 24 horas, sendo o horário de atendimento normal de consultas das 9.30 às 19.30 de segunda-feira a sábado, o atendimento aos domingos e feriados é de carácter urgente.

A Clínica de Santana oferece assistência veterinária a animais de produção, de companhia e exóticos. O serviço prestado na área dos animais de produção é realizado em regime de ambulatório nas áreas de clínica, cirurgia, reprodução e obstetrícia, controlo de qualidade leiteira e alimentação. Este serviço permite não só o diagnóstico e tratamento de doenças nestas áreas, mas também a consultadoria a explorações leiteiras.

Relativamente à área dos animais de companhia e exóticos, a clínica dispõe dos seguintes serviços: consultas de medicina das especialidades indicadas na Tabela 1 e de emergência; internamento e cuidados intensivos; cirurgia; imagiologia (radiologia e ecografia); serviços de laboratório e de análises clínicas; reprodução e inseminação artificial; disponibilizando ainda serviço ao domicílio. Realça-se que os canídeos e os felídeos foram as espécies mais atendidas. Deste leque de serviços, as consultas de medicina preventiva, da qual fazem parte as vacinações, desparasitações, aplicação de *microchip* e *check-up* foram a área com maior peso na casuística da Clínica Veterinária de Santana.

Durante a realização do estágio curricular colaborei nas consultas de medicina interna, acompanhei/auxiliei ou realizei a anamnese, história clínica, contenção, exame físico e colheita de material biológico para análise laboratorial. Após cada consulta havia um pequeno diálogo com o médico veterinário sobre o diagnóstico diferencial, exames complementares realizados, prognóstico e tratamentos instituídos.

Na Tabela 1 apresento uma síntese das consultas a que assisti.

**Tabela 1:** Casuística das consultas assistidas

ESPECIALIDADES	
Gastroenterologia	50
Dermatologia	20
Nefrologia	15
Ortopedia	10
Oftalmologia	10
Neurologia	6
Doenças infecto-contagiosas	5
Endocrinologia	3
Cardiologia	3
Reprodução e obstetrícia	2
Total	144

No serviço de cirurgia, participei na preparação pré-cirúrgica do animal (preparação e administração da pré-medicação e anestesia, tricotomia, lavagem e desinfecção do animal) e preparação do material cirúrgico a utilizar. Durante a cirurgia realizei a monitorização anestésica e desempenhei a tarefa de ajudante de cirurgião. Foi-me ainda possível realizar diferentes suturas e fazer como cirurgiã principal algumas cirurgias eletivas nomeadamente ováriohisterectomias e orquiectomias em felídeos e canídeos, exérese de massas subcutâneas, enucleação do globo ocular, correção de entrópion pelo método do pragueamento palpebral e destartarização. Após cada cirurgia, procedia à monitorização pós-cirúrgica dos pacientes.

Na Tabela 2 apresento a casuística de cirurgias assistidas.

**Tabela 2:** Casuística de cirurgias assistidas

<b>CIRURGIAS</b>	
<b>Tecidos moles:</b>	
– Orquiectomia	31
– Ováriohisterectomia	55
– Mastectomia	10
– Exérese de nódulos variados	5
– Ablação do pavilhão auricular	2
– Cesariana	1
– Prolapso vaginal	1
– Invaginação intestinal	1
– Piómetra	5
Subtotal	111
<b>Estomatologia:</b>	
– Destartarização	8
– Extração dentária	2
Subtotal	10
<b>Ortopedia:</b>	
– Osteossíntese do fémur e úmero	5
Subtotal	5
<b>Oftalmologia:</b>	
– Enucleação	1
– Exérese de nódulo palpebral	2
– Correção do prolapso da glândula da 3ª pálpebra	3
– Correção de entrópion	6
Subtotal	12
<b>Aparelho urinário:</b>	
– Remoção de cálculos vesicais	2
Subtotal	2
Total	140

No serviço de internamento, procedi à monitorização (controlo da fluídoterapia, temperatura, frequências cardíacas e respiratórias) dos animais hospitalizados, preparação e administração de medicação (oral (PO), intramuscular (IM), endovenosa (IV) e subcutânea (SC)), alimentação, cuidados de higiene e exercício/passeio no exterior. Realizei ainda tarefas diversas como colocação de cateteres endovenosos, colheita de sangue para



análise, lavagem e desinfecção de feridas, limpeza do pavilhão e conduto auditivo, observação com otoscópio, realização de pensos, raspagens cutâneas, exame com lâmpada de Wood, realização e observação de esfregaços sanguíneos, algaliação em canídeos e felídeos machos, lavagem vesical, enemas, recolha, preparação e envio de amostras para análise laboratorial, exames microscópicos diretos, entre outros.

No serviço de imagiologia, auxiliei na realização de radiografias e ecografias. Na radiologia pratiquei o posicionamento do animal, o funcionamento do aparelho e a interpretação da imagem. Na ecografia, assisti somente a ecografias abdominais, tendo praticado a colocação e a movimentação da sonda no paciente e a identificação das diferentes estruturas, bem como avaliação da sua ecomorfologia.

O estágio no Hospital Veterinário das Laranjeiras possibilitou-me adquirir conhecimentos e técnicas que pude posteriormente partilhar com a equipa da Clínica Veterinária de Santana de forma a valorizar, ainda mais, a qualidade do trabalho da equipa.

Considero que ao estagiar em dois locais com características e perfis socioeconómicos diferentes foi muito enriquecedor para mim, na medida que tive a oportunidade de contactar com duas realidades distintas. Apesar da clínica onde realizei formalmente o meu estágio curricular não reunir as condições de excelência (como as que tive acesso no estágio profissionalizante no HV Laranjeiras), consciencializou-me que é possível realizar um trabalho de qualidade se nos soubermos adaptar aos condicionalismos que nos rodeiam.

Na Clínica Veterinária de Santana encontrei uma equipa preparada para supervisionar o meu estágio, ajudando-me, transmitindo-me conhecimentos e recetivos às minhas dúvidas e sugestões.

O trabalho laboratorial/experimental foi realizado no Laboratório de Virologia e Imunologia da Faculdade de Medicina Veterinária sob a supervisão da Professora Doutora Ana Duarte. Este decorreu no período de 24 a 28 de Fevereiro de 2014, representando uma carga horária total de 20 horas.

## CAPÍTULO II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1. INTRODUÇÃO

O vírus da leucemia felina (FeLV) e o vírus da imunodeficiência felina (FIV) pertencem à família *Retroviridae*, sendo retrovírus muito importantes por serem responsáveis por duas das doenças infecciosas comuns nos gatos domésticos e silvestres de todo o mundo, pondo em risco o seu bem-estar e vida, e a conservação de espécies silvestres em risco de extinção (Lee, Levy, Gorman, Crawford & Slater, 2002; Gleich, Krieger & Hartmann, 2009; Hartmann, 2011; Little, Bienzle, Carioto, Chisholm, O'Brien & Scherk, 2011; Stojanovic & Foley, 2011; Bande *et al.*, 2012). Os retrovírus exibem um elevado grau de variação genética, porém o FIV revela uma variação maior que o FeLV (Dunham & Graham, 2008). A imunossupressão que ambos os vírus causam nos animais infetados leva ao desenvolvimento secundário de infeções por microrganismos oportunistas, tumores e anemia (Baneth, Kass, Steinfeld & Besser, 1999; Hartmann *et al.*, 2007; Little *et al.*, 2011; Bande *et al.*, 2012) que no pior cenário podem culminar na morte dos gatos infetados (Baneth *et al.*, 1999). Contudo, o FeLV causa um maior impacto na saúde dos felinos quando comparado com o FIV, pois é mais patogénico (Fromont, Courchamp, Artois & Pontier, 1997; Ford, 2011; Hartmann, 2011; Sykes & Hartmann, 2013). Os gatos errantes e assilvestrados são considerados reservatórios de FIV e FeLV, podendo ter impacto na saúde dos gatos domésticos (Lee *et al.*, 2002; Kelly *et al.*, 2010; Stojanovic & Foley, 2011). Na Europa e na Península Ibérica, o gato-bravo (*Felis silvestris*) pode também desempenhar um papel importante no ciclo epidemiológico destes retrovírus, em particular do FeLV, como tem sido referenciado na literatura (McOrist, 1992; Daniels, Golder, Jarret & MacDonald, 1999; Millán & Rodriguez, 2009). Os retrovírus são agentes importantes de morbilidade e mortalidade nos felinos domésticos e selvagens (Bande *et al.*, 2012).

Atualmente faz parte das boas práticas nas clínicas veterinárias, realizar testes rápidos de diagnóstico laboratorial para pesquisa destas doenças, pois o diagnóstico laboratorial é a única forma precisa de identificar a infeção (Gruffydd-Jones, 2009; Ford, 2011). O prognóstico é melhor em relação ao FIV do que o FeLV, pois os gatos infetados por FIV tendem a ter mais tempo de sobrevivência que os infetados pelo FeLV (Ford, 2011).

Existem atualmente vacinas de vários tipos contra o FeLV aprovadas e disponíveis comercialmente na Europa (Levy *et al.*, 2008a; European Advisory Board on Cat Diseases [ABCD], 2012b). Nos USA e no Japão está disponível uma vacina inativada contra o FIV desde 2002 cuja comercialização não foi aprovada pela *European Medicines Agency*.

## 2. IMUNODEFICIÊNCIA FELINA

### 2.1. ETIOLOGIA

O FIV pertence à família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae*, gênero *Lentivirus*, tendo sido isolado pela primeira vez em 1986 (Pedersen, Ho, Brown, & Yamamoto, 1987; *International Committee on Taxonomy of Viruses* [ICTV], 2012).

Os lentivírus podem ser divididos em dois grupos. Um grupo é constituído pelos vírus que infetam os linfócitos T e monócitos/macrófagos causando imunodeficiência, como é o caso dos lentivírus dos primatas (vírus da imunodeficiência humana (HIV), vírus da imunodeficiência símia), do vírus da imunodeficiência bovina e do FIV. O outro grupo é constituído pelos vírus que infetam predominantemente monócitos/macrófagos causando doenças imunomediadas como o vírus Maedi-Visna, o vírus da artrite e da encefalite caprina e o vírus da anemia infecciosa equina (Miyazawa, Tomonaga, Kawaguchi, & Mikami, 1994).

A síndrome de imunodeficiência adquirida no gato doméstico resultante da infeção pelo FIV é similar ao HIV, sendo por isso um importante modelo animal para o estudo do ciclo de vida, patogenia, prevenção e terapêutica dos Lentivirus (Barr & Phillips, 2008; Hosie *et al.*, 2009; Duarte, Gil, Leal & Tavares, 2012; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013).

Para além do gato doméstico (*Felis catus*) o FIV contagia outras espécies felinas, tais como o Leão Africano (*Panthera leo*) e o Puma Norte-Americano (*Puma concolor*) (Hayward & Rodrigo, 2010). Já foram identificados anticorpos (Ac) contra o FIV em 16 espécies de felinos silvestres (Carpenter & O'Brien, 1995, citado por Courchamp, Yoccoz, Artois & Pontier, 1998).

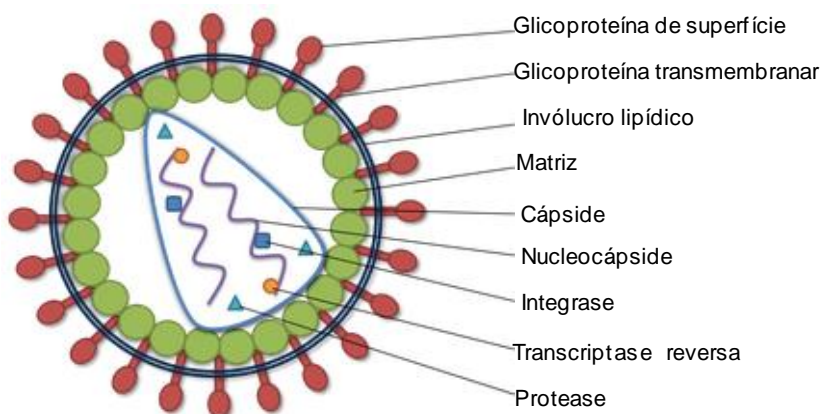
O virião do FIV (Figura 2) apresenta 80 a 100 nanómetros (nm) de diâmetro (MacLachlan & Dubovi, 2011), sendo constituído por uma nucleocápside (NC) de secção esférica a cónica, e por um invólucro lipídico com glicoproteínas (gp) que vão distinguir os diferentes subtipos de FIV (MacLachlan & Dubovi, 2011; Duarte *et al.*, 2012; Sellon & Hartmann, 2012).

A NC inclui um genoma de ácido ribonucleico (RNA) de cadeia simples, diploide de sentido positivo (Duarte *et al.*, 2012; O'Keefe, 2013), com uma transcriptase reversa (RT) viral associada, localizado dentro de um núcleo interno (O'Keefe, 2013). O genoma viral possui cerca de 9400 bases de nucleótidos sendo ladeado por duas regiões terminais repetidas (LTR) que tem por sua vez uma função reguladora da transcrição viral (Elder, Lin, Fink & Grant, 2010; Duarte *et al.*, 2012; Sykes, 2013).

Para além da NC no núcleo interno, também se encontra proteínas estruturais, como a cápside (CA), e proteínas enzimáticas como a protéase (PR), dUTPase, a integrase (IN) e RNA transferase (tRNA) (Duarte *et al.*, 2012; O'Keefe, 2013). Este núcleo interno é cercado por uma camada de proteínas que forma a matriz (MA) que por sua vez é englobado pelo invólucro (O'Keefe, 2013).

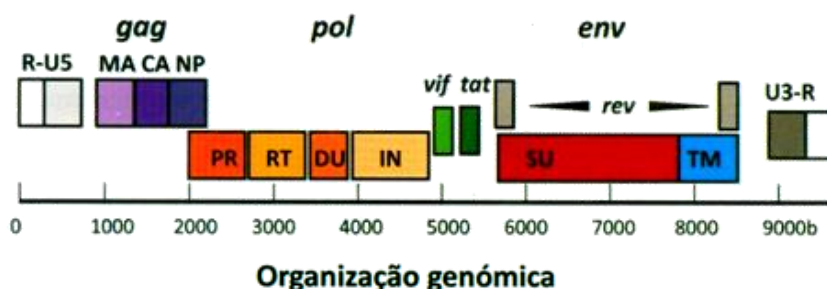
Os retrovírus usam a RT para produzir uma cópia de ácido desoxirribonucleico (DNA) de filamento duplo a partir do RNA do virião, no entanto esse processo não é totalmente eficaz, podendo originar erros na sequência genômica da nova partícula viral contribuindo assim para uma elevada variação genética (Barr & Phillips, 2008; Dunham & Graham, 2008; Sykes, 2013). Os tRNAs são enzimas essenciais para a reação da transcriptase reversa (MacLachlan & Dubovi, 2011).

**Figura 2:** Imagem esquemática de um retrovírus, adaptado de O'Keefe (2013)



O genoma do FIV (Figura 3), enquanto retrovírus, inclui três genes estruturais, *gag*, *pol* e *env*, que vão codificar as principais proteínas estruturais e enzimáticas do vírus, e três genes acessórios, *vif*, *ORF A* e *rev*, que codificam as proteínas envolvidas na regulação da replicação viral (Miyazawa *et al.*, 1994; Barr & Phillips, 2008; Duarte *et al.*, 2012; O'Keefe, 2013).

**Figura 3:** Organização genômica do FIV, Duarte *et al.* (2012)



O gene *gag* codifica as proteínas que constituem a MA, a NC e a CA viral (Miyazawa *et al.*, 1994; Elder *et al.*, 2010; Sykes, 2013). O gene *pol* codifica quatro proteínas enzimáticas, a PR, a RT, a dUTPase e a IN (Miyazawa *et al.*, 1994; Elder *et al.*, 2010; Duarte *et al.*, 2012; Sykes, 2013). A PR é a enzima responsável pela clivagem das proteínas da CA viral, na fase de maturação do ciclo replicativo (Duarte *et al.*, 2012). A RT, referida anteriormente, vai permitir a transcrição reversa do genoma viral e consequente síntese do provírus (Duarte *et al.*, 2012). A dUTPase, não está presente nos lentivírus dos primatas, sendo uma característica do lentivírus de animais não primatas (Miyazawa *et al.*, 1994). A IN é

responsável pela integração do provírus no genoma da célula infetada (Duarte *et al.*, 2012). O gene *env* codifica as duas proteínas que formam o invólucro viral, a glicoproteína de superfície (gpSU), gp120, e a glicoproteína transmembranária (gpTM), gp41 (Duarte *et al.*, 2012; O'Keefe, 2013; Sykes, 2013). Estas duas glicoproteínas são as principais mediadoras da entrada do vírus na célula hospedeira. A gpSU liga-se ao recetor primário, que no FIV é o CD134, e de seguida a gpTM liga-se a um recetor secundário, o recetor de quimioquinas CXCR4 (Duarte *et al.*, 2012).

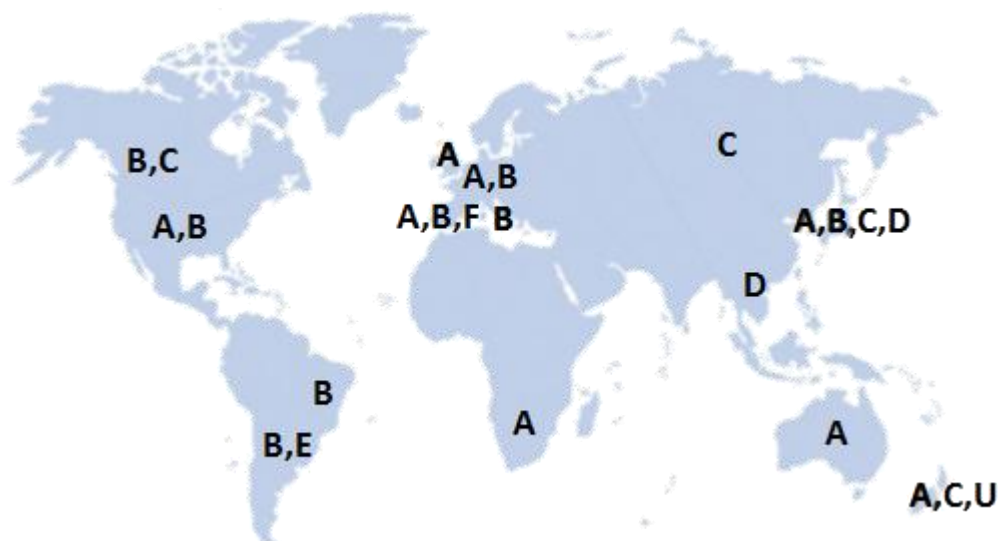
Os genes acessórios permitem uma regulação temporal do padrão transcricional do vírus. O gene *vif* é necessário para a replicação viral nas fases iniciais após infeção. O gene ORF A participa tanto na formação de novos viriões como na infecciosidade dos mesmos. O gene *rev* modula o início da transcrição do RNA viral que codifica as proteínas estruturais do virião, assim como do RNA viral genómico. A concentração citoplasmática de RNA mensageiro (mRNA) do gene *rev* desencadeia a passagem para a fase produtiva do ciclo replicativo (Duarte *et al.*, 2012).

## **2.2. EPIDEMIOLOGIA**

Devido ao elevado nível de variação genética (Dunham & Graham, 2008), especialmente do gene *env* (região V3-V5), este retrovírus possui uma grande diversidade genética da gpSU, tendo sido definidos sete subtipos filogenéticos: A, B, C, D, E, F e U-NZenv (Hayward & Rodrigo, 2010; Grace, 2011; Sellon & Hartmann, 2012). A distribuição geográfica dos subtipos do FIV parece não ter um padrão determinado (Duarte *et al.*, 2012) (Figura 4). Num estudo realizado por Steinrigl, em gatos infetados na Alemanha e Áustria, verificaram que a variação genética do FIV é alta (Steinrigl, Ertl, Langbein, & Klein, 2010).

Os subtipos mais identificados são o A e o B apresentando uma distribuição mundial mais dispersa (Duarte & Tavares, 2006; Hosie *et al.*, 2009). Em relação à Europa, verifica-se que o subtipo A predomina no norte-ocidental da Europa e o subtipo B no sul da Europa (Steinrigl *et al.*, 2010). Quanto ao subtipo C, é mais frequente na Ásia, Japão, Nova Zelândia, Europa e Canadá (Duarte & Tavares 2006; Hayward, Taylor & Rodrigo, 2007; Duarte *et al.*, 2012). O subtipo D foi detetado no Japão e Vietnam (Hayward & Rodrigo, 2010) enquanto o subtipo E foi descrito na Argentina (Hayward & Rodrigo, 2010; European Advisory Board on Cat Diseases [ABCD], 2012a; Duarte *et al.*, 2012). Em 2006, Duarte & Tavares identificaram em Portugal os subtipos A, B e F. Na Nova Zelândia, Hayward *et al.* (2007) identificam o subtipo U-NZenv (Hayward & Rodrigo, 2010).

**Figura 4:** Distribuição global dos subtipos de FIV, adaptado de Hosie *et al.* (2009)



A prevalência de FIV é variável geograficamente e depende de fatores de risco como a condição de vida do animal (Anexo 1) (Bandeccchi *et al.*, 1992; Gleich *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012; Gil *et al.*, 2013; Scherk *et al.*, 2013a). A prevalência de FIV em gatos de companhia tem sido reportado entre 4% e 12% (Courchamp & Pontier, 1994, citado por Hayward & Rodrigo, 2010) e nos gatos assilvestrados entre 8% e 19% (Baneth *et al.*, 1999; Winkler *et al.*, 1999; Ostrowski *et al.*, 2003; Danner *et al.*, 2007; Hayward, 2009, citado por Hayward & Rodrigo, 2010).

Verifica-se que podem existir diferenças de prevalências entre o Norte e o Sul da Europa, encontrando prevalências mais baixas no Norte da Europa e prevalências mais altas no Sul (Gleich *et al.*, 2009), verificando-se que a prevalência nos gatos assilvestrados é mais alta quando comparada com a dos animais de companhia (Courchamp *et al.*, 1998).

Em Portugal desconhece-se a prevalência a nível nacional e regional, mas estima-se que seja considerável (Gil & Leal, 2012). Em 2010, um estudo realizado em gatos errantes na área metropolitana de Lisboa, detetou uma prevalência de 10,2% (Duarte *et al.*, 2010).

### **2.2.1. TRANSMISSÃO**

A principal via de transmissão natural do FIV decorre da inoculação do próprio vírus ou células infetadas pelo vírus, presente na saliva de gatos com infeção ativa através de mordeduras (Fromont *et al.*, 1997; Courchamp *et al.*, 1998; Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012a; Duarte *et al.*, 2012). A carga viral e o subtipo do vírus presente na saliva do animal infetado são fatores que interferem na probabilidade de transmissão da infeção (Hosie *et al.*, 2009).

Ao contrário do que acontece no HIV, não está documentada a propagação natural do FIV através das vias oronasal e venérea (Dunham & Graham, 2008; Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009; Gil & Leal, 2012), embora experimentalmente, os gatos possam ser infetados pela inoculação do vírus ou células infetadas pelo vírus pela via oral, nasal, intravaginal e

intrarectal (Moench *et al.*, 1993, citado por ABCD, 2012a; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013), assim como a inoculação parentérica de sangue, plasma ou soro (Yamamoto *et al.*, 1989; Sellon e Hartmann, 2012), embora o vírus esteja presente em maior concentração na saliva (Yamamoto *et al.*, 1989). Após a infecção, natural ou experimental, o vírus pode ser detectado no sêmen (Levy *et al.*, 2008a; ABCD, 2012a; Sellon & Hartmann, 2012). A transmissão vertical foi descrita experimentalmente como meio de transmissão do vírus de mãe para filhos através da via transplacentária, durante o parto e através da ingestão de colostro e leite materno (Kim, 2011; Grace, 2011; Allison & Hoover, 2003, citado por Duarte *et al.*, 2012; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013). A proporção de crias infectadas depende da carga viral da mãe durante a gravidez e o parto (ABCD, 2012a). Se a progenitora estiver numa fase aguda, mais de 70% das crias podem ser infectadas, no entanto, se a progenitora estiver na fase assintomática, provavelmente nenhuma cria será infectada (ABCD, 2012a).

Uma vez que a transmissão do FIV ocorre predominantemente por mordedura, os gatos machos inteiros de vida livre e dominantes são o principal reservatório do vírus devido a serem mais propensos ao envolvimento em lutas para marcação territorial e posse das fêmeas na época do cio (Courchamp *et al.*, 1998; Lee *et al.*, 2002; Steinrigl *et al.*, 2010; Duarte *et al.*, 2012; Scherk *et al.*, 2013a). Bande *et al.* (2012) concluiu que os gatos agressivos apresentam duas vezes mais probabilidade de adquirirem infecção por FIV que os não agressivos.

Em praticamente todas as publicações, a seroprevalência é maior em gatos machos do que em fêmeas (Fromont *et al.*, 1997; Lee *et al.*, 2002; Levy, Scott, Lachtara & Crawford, 2006; Gleich *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012). No entanto as fêmeas inteiras, podem ser mais infectadas quando comparadas com as fêmeas esterilizadas, devido à cópula em que o macho normalmente morde no pescoço da fêmea (Courchamp *et al.*, 1998; ABCD, 2012a).

A frequência de infecção é maior nos gatos adultos do que nos jovens (Fromont *et al.*, 1997; Levy *et al.*, 2006; Gleich *et al.*, 2009; Grace, 2011; Bande *et al.*, 2012; Sellon & Hartmann, 2012). Porém, Courchamp *et al.* (1998) concluiu que a prevalência aumenta com a idade mas apenas nos machos, refletindo a sua crescente agressividade. Outro estudo revelou que os gatos adultos são 1,8 vezes mais propensos a adquirir a infecção por FIV (Bande *et al.*, 2012). Em ambientes onde as hierarquias estão bem estabelecidas o risco de transmissão é reduzido, dada a menor frequência de conflitos entre os animais coabitantes (Courchamp *et al.*, 1998; Hosie *et al.*, 2009; Gil & Leal, 2012).

O risco de infecção é maior em gatos com estilo de vida livre, uma vez que estão mais expostos a agressões, como mordeduras (Fromont *et al.*, 1997; Courchamp *et al.*, 1998; Gleich *et al.*, 2009). Um estudo concluiu que estes gatos têm uma probabilidade de 4,8 vezes maior de serem seropositivos em relação aos gatos mantidos dentro de casa (O'Connor *et al.*, 1991; citado por Lee *et al.*, 2002). Numa população, a prevalência de FIV

em gatos saudáveis é geralmente menor do que em gatos doentes, tendo estes duas vezes mais a probabilidade de serem positivos ao FIV (Levy *et al.*, 2006; Bande *et al.*, 2012; Sellon & Hartmann, 2012). A infecção concomitante com FeLV aumenta o risco de infecção por FIV (Gleich *et al.*, 2009; Sykes, 2013).

Gleich *et al.* (2009) constataram que os animais de raças indeterminadas apresentaram maior risco de infecção.

Courchamp *et al.* (1998) concluíram que nem todos os gatos apresentam o mesmo risco de infecção, pois fatores como sexo, idade, condições de vida, o estado de saúde e origem determinam comportamentos que influenciam a infecção pelo FIV (Levy *et al.*, 2006; Bande *et al.*, 2012). Sendo a seropositividade maior em gatos adultos inteiros, machos, agressivos, doentes e com acesso ao exterior (Levy *et al.*, 2006; Gleich *et al.*, 2009; Hosie *et al.*, 2009; Grace, 2011; ABCD, 2012a; Bande *et al.*, 2012; Gil *et al.*, 2013; Sykes, 2013). No entanto, a taxa de transmissão e a contagiosidade do FIV são baixas (Courchamp *et al.*, 1998; Gleich *et al.*, 2009) o que se reflete numa baixa taxa de mortalidade (Gleich *et al.*, 2009).

### **2.3. PATOGENIA DA INFEÇÃO E IMUNIDADE**

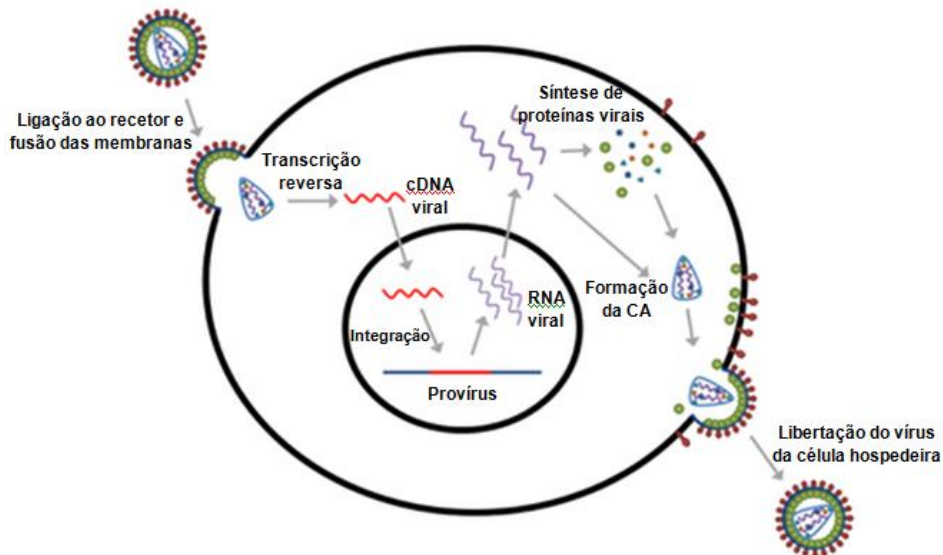
O FIV tem um tropismo para os linfócitos T (CD4+ e CD8+) e B, células dendríticas, monócitos/macrófagos e células do sistema nervoso central (SNC) (microglia e astrócitos) (Lappin, 2006; Elder *et al.*, 2010; Hartmann, 2011; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013).

Numa breve descrição, o ciclo de replicação do retrovírus inicia-se com a entrada do vírus na célula hospedeira. Esta requer a presença de certos recetores na superfície da célula alvo, como o recetor primário CD134 e um recetor secundário, o recetor de quimioquinas CXCR4 (Dunham & Graham, 2008; Duarte *et al.*, 2012; Sellon & Hartmann, 2012; O'Keefe, 2013; Sykes, 2013). Estes recetores vão interagir com as glicoproteínas presentes no invólucro viral (O'Keefe, 2013). Quando o vírus se aproxima da célula alvo, a gp120 (gpSU) liga-se ao recetor CD134 e posteriormente a gp41 (gpTM) liga-se ao recetor CXCR4 proporcionando a fusão do invólucro com a membrana celular da célula hospedeira com a consequente libertação do núcleo viral para o citoplasma da célula alvo (Duarte *et al.*, 2012; O'Keefe, 2013). No citoplasma da célula hospedeira, a RT inicia a transcrição reversa do RNA viral numa dupla cadeia de DNA (O'Keefe, 2013; Sykes, 2013). Uma vez que esta etapa não é totalmente eficaz, podem ocorrer erros de leitura o que levará a mutações do FIV resultando em múltiplas estirpes que podem escapar à deteção imunológica sendo por isso importante o desenvolvimento de técnicas de diagnóstico molecular e das vacinas (Dunham & Graham, 2008; Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012a). A cadeia de DNA viral integra-se no genoma da célula infetada, devido à ação da enzima IN originando o provírus, levando à persistência da informação genómica viral nas células infetadas (Dunham & Graham, 2008; O'Keefe, 2013). Este provírus sofre transcrição originando mRNA que são transportados do núcleo para o citoplasma onde ribossomas sintetizam novas proteínas



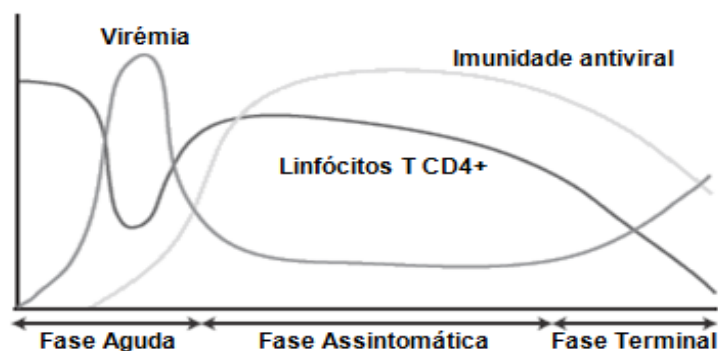
virais. No citoplasma, duas cadeias simples de RNA viral associam-se a enzimas de replicação e as proteínas do núcleo agrupam-se formando a cápside viral. Após isso, essa partícula viral migra para a superfície da célula, adquirindo um novo invólucro a partir da membrana celular do hospedeiro abandonando a célula hospedeira (Figura 5) (O'Keefe, 2013).

**Figura 5:** Ciclo de replicação do retrovírus, adaptado de O'Keefe (2013)



À semelhança da infecção por HIV nas pessoas, a infecção por FIV progride em três diferentes fases: aguda, assintomática e terminal (Gráfico 1) (Dunham & Graham, 2008; Grace, 2011; Hartmann, 2011).

**Gráfico 1:** Evolução temporal da infecção por FIV, adaptado de Dunham & Graham (2008)



O FIV tem a capacidade de produzir uma infecção persistente uma vez que o genoma viral se integra no genoma celular das células linfoides e mielomonocíticas (Dunham & Graham, 2008).

O FIV pode ser detetado no plasma duas semanas após a infecção (Levy *et al.*, 2008a; ABCD, 2012a; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013). Na fase aguda, o vírus replica-se rapidamente nas células dendríticas, macrófagos e linfócitos T CD4+, levando à liberação de partículas virais que proporcionam um pico de virémia que ocorre entre as 8 e as 12

semanas após a infecção e uma diminuição dos linfócitos T CD4+ e CD8+ (Dunham & Graham, 2008; Levy *et al.*, 2008a; Duarte *et al.*, 2012; Scherk *et al.*, 2013a; Sykes, 2013). Após 2 a 4 semanas no decurso da infecção, os Ac anti-FIV e os Ac neutralizantes aparecem no plasma (Dunham & Graham, 2008; Hosie *et al.*, 2009). Estes Ac contra o FIV reconhecem especificamente proteínas estruturais do invólucro, cápside (p24) e transmembranares (Hosie *et al.*, 2009; Sellon e Hartmann 2012). A replicação viral é controlada pela resposta imunitária contra o vírus. Linfócitos T citotóxicos (CD8+) específicos contra o FIV podem ser detetados no sangue uma semana após infecção (Dunham & Graham, 2008; Duarte *et al.*, 2012).

A diminuição da carga viral plasmática, que está associada ao desenvolvimento de resposta imunitária antiviral, anuncia o início da chamada fase assintomática que pode durar vários anos ou prolongar-se até ao fim da vida do animal (Dunham & Graham, 2008; Hosie *et al.*, 2009; Duarte *et al.*, 2012). Esta fase, não é considerada um período de latência viral verdadeira uma vez que o FIV continua a produzir-se nas células infetadas em baixo níveis podendo ser detetado a partir dos linfócitos, soro ou plasma, líquido cefalorraquidiano, sêmen e tecidos linfóides (Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013). Durante este período a carga viral no plasma mantém-se estável e em níveis relativamente baixos, no entanto ocorre um declínio progressivo dos linfócitos T CD4+ e CD8+ que pode ser suficiente para desencadear um estado de imunossupressão dando assim oportunidade a infeções oportunistas (Dunham & Graham, 2008; Duarte *et al.*, 2012).

Na fase terminal da infecção, ocorre diminuição da resposta imunitária antiviral, havendo novamente um aumento da carga viral plasmática (Dunham & Graham, 2008; Duarte *et al.*, 2012). Esta fase também é conhecida por síndrome da imunodeficiência adquirida felina (FAIDS) (Duarte *et al.*, 2012). Com a progressão da infecção surge uma diminuição da relação dos linfócitos T CD4+/CD8+, o que compromete o funcionamento da resposta imunitária (Hosie *et al.*, 2009; Hartmann, 2011; Duarte *et al.*, 2012; Scherk *et al.*, 2013a). A diminuição das células CD4+ deve-se à diminuição da sua produção por parte da MO ou infecção do timo, lise das células infetadas induzida pelo vírus ou morte por apoptose (Hartmann, 2011). A perda das células CD4+ vai prejudicar a resposta imunitária uma vez que estas células têm um papel na promoção e manutenção tanto da imunidade humoral como da imunidade celular (Hosie *et al.*, 2009; Hartmann, 2011; ABCD, 2012a; Sellon & Hartmann, 2012; Scherk *et al.*, 2013a).

Quando a célula hospedeira integra o provírus mas não produz novas cópias de partículas virais, estamos perante uma infecção latente que pode ser quebrada com a ativação dessa célula. Esta célula representa assim um reservatório não suscetível à ação dos Ac neutralizantes o que constitui um obstáculo à vacinação (Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012a).

Em paralelo, ocorrem outras alterações imunológicas: diminuição da capacidade de adesão e migração dos neutrófilos em resposta a infeções bacterianas (Hartmann, 2011; Sellon &

Hartmann, 2012); diminuição da atividade das células *Natural Killer* na fase aguda da infecção e aumento na fase assintomática (Hartmann, 2011; Sellon & Hartmann, 2012); aumento da produção de interferão gama (IFN- $\gamma$ ), do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), e de interleucinas (IL), IL-4, IL-6, IL-10 e IL-12 (Hartmann, 2011; Duarte *et al.*, 2012; Sellon & Hartmann, 2012). Uma outra alteração imunológica observada em gatos FIV positivos é a hiperestimulação de células B policlonais por consequência direta da infecção por FIV levando a hipergamaglobulinémia (Hosie *et al.*, 2009; Hartmann, 2011; Sellon & Hartmann, 2012).

A patogenia do animal infectado pelo FIV depende da interação de vários fatores como a idade do animal aquando da infecção (animais jovens desenvolvem sinais clínicos mais cedo), a estirpe viral isolada (algumas estirpes são mais patogénicas que outras), a carga viral e a via de transmissão (Hartmann, 2011; Sellon & Hartmann, 2012).

## **2.4. APRESENTAÇÃO CLÍNICA**

A maioria dos sinais clínicos que os animais apresentam não é causada diretamente pelo FIV mas sim devido à imunossupressão que este induz (Bandeccchi *et al.*, 1992; Hosie *et al.*, 2009; Scherk *et al.*, 2013a). Em muitos casos, os sinais clínicos que os gatos infectados pelo FIV apresentam são resultado de uma infecção secundária que deve ser identificada e tratada (Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012a; Gil e Leal, 2012; Scherk *et al.*, 2013a). Assim, o FIV aumenta o risco de desenvolvimento de infeções oportunistas (*Cryptococcus*, micobactérias, *Demodex* e outros parasitas), infeções bacterianas secundárias no trato respiratório superior, cavidade oral e conjuntiva, enterite crónica, doenças de pele, doenças neurológicas e neoplasias (Yamamoto *et al.*, 1989; Dunham & Graham, 2008; Hartmann, 2011; Little *et al.*, 2011; Duarte *et al.*, 2012; Sellon e Hartmann, 2012).

Na fase aguda da infecção, que pode durar dias a semanas, geralmente ocorre o desenvolvimento de um quadro clínico fugaz e transitório, associado à replicação viral, podendo o animal apresentar anorexia, febre, letargia, sinais de enterite, estomatite, dermatite, conjuntivite, infeções respiratórias e/ou linfadenomegália generalizada (Dunham & Graham, 2008; Grace, 2011; Hartmann, 2011; Duarte *et al.*, 2012; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013). Esta sintomatologia inespecífica tende a desaparecer rapidamente, porém há sinais clínicos, como a linfadenomegália, que podem permanecer durante semanas ou meses (Dunham & Graham, 2008; Hosie *et al.*, 2009; Duarte *et al.*, 2012; Sykes, 2013). Em alguns gatos a fase aguda pode passar despercebida (Grace, 2011).

Durante a fase assintomática, o animal não apresenta sintomatologia clinicamente detetável podendo ser bastante saudável (Dunham & Graham, 2008; Grace, 2011; Duarte *et al.*, 2012; Gil & Leal, 2012). A duração do período assintomático é variável podendo durar meses a anos e alguns gatos podem nunca exibir sinais clínicos (Hosie *et al.*, 2009; Grace, 2011; Hartmann, 2011; ABCD, 2012a; Gil & Leal, 2012). A duração dessa fase varia para cada

indivíduo dependendo do potencial patogénico do vírus, da exposição do indivíduo infetado a outros agentes patogénicos e da idade no momento da infeção (Gleich *et al.*, 2009; Hartmann, 2011; Sellon & Hartmann, 2012).

A fase terminal da infeção, normalmente, manifesta-se mais tarde, geralmente à volta dos 4-6 anos de idade (Hosie *et al.*, 2009). Na fase terminal, também conhecida como síndrome de imunodeficiência adquirida felina (FAIDS), a maioria dos sinais clínicos devem-se a infeções concomitantes e oportunistas, neoplasia, mielossupressão e alterações neurológicas (Grace, 2011; Hartmann, 2011; Duarte *et al.*, 2012; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013). Nesta fase pode-se observar perda de peso, diarreia persistente, gengivo-estomatite, doença respiratória crónica, linfadenopatia (Hosie *et al.*, 2009; Grace, 2011) e doença dermatológica crónica (Grace, 2011).

A gengivo-estomatite crónica felina (GECF) é a síndrome mais frequente em gatos FIV positivos (Hosie *et al.*, 2009; Grace, 2011; Hartmann, 2011; ABCD, 2012a). A sua causa não é clara, porém os achados histológicos da mucosa (linfócitos, neutrófilia e eosinófilia inflamatória) sugerem uma resposta imunológica à estimulação antigénica crónica ou desregulação do sistema imunológico (Hartmann, 2011; Sellon & Hartmann, 2012). Esta síndrome nem sempre está relacionada com o FIV e geralmente não se manifesta em gatos experimentalmente infetados e livres de outros agentes patogénicos sugerindo assim que, a exposição a outros agentes tem um importante papel na manifestação da GECF (Hartmann, 2011; Sellon & Hartmann, 2012). No entanto, parece que a GECF é causada por uma combinação de agentes virais, como o calicivírus (FCV), herpesvírus (FHV) e retrovírus, e agentes bacterianos responsáveis por infeções secundárias (*Pasteurella* sp, *Streptococcus* sp, etc.) (Niza, Mestrinho & Vilela, 2004; Hartmann, 2011).

Infeções por muitos agentes patogénicos oportunistas de origem viral, bacteriana, protozoária e fúngica, têm sido relatados em gatos FIV positivos (Hartmann, 2011; ABCD, 2012a; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013). Estas infeções secundárias devem-se à falha progressiva da função do sistema imunitário causada pelo vírus, sendo a mais importante a diminuição de células CD4+ no sangue periférico e na maior parte dos tecidos linfóides primários (Hartmann, 2011). Alguns exemplos de vírus que podem simultaneamente infetar gatos FIV positivos são o coronavírus, FCV, FHV e FeLV (Gleich *et al.*, 2009; Grace, 2011; Hartmann, 2011).

Embora seja pouco frequente, está descrita a manifestação de sinais neurológicos em animais infetados naturalmente ou experimentalmente com FIV quer na fase aguda quer na crónica (Hosie *et al.*, 2009; Hartmann, 2011; Sellon & Hartmann, 2012). Como sintomatologia neurológica mais comum temos alterações comportamentais podendo ainda observar-se espasmos da face e da língua, perda de controlo dos esfíncteres urinário e rectal, nistagmos, ataxia, convulsões, tremores, paresia (Hartmann, 2011) e anisocoria (Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012a). Histologicamente evidencia-se uma inflamação ligeira a

moderada com infiltração de células mononucleares em diferentes tecidos do SNC (Hartmann, 2011). Sob condições experimentais, o FIV provavelmente invade o cérebro através da barreira hemato-encefálica e do fluido cefalorraquidiano (Hartmann, 2011). Os mecanismos e fatores que influenciam esta entrada do vírus não são muito conhecidos mas parece que o TNF- $\alpha$  contribui para a migração dos linfócitos por estas vias (Fletcher *et al.*, 2010; citado por Hartmann, 2011). As células do SNC mais afetadas são os astrócitos. A infecção dos astrócitos pelo FIV inibe significativamente a capacidade de eliminação de glutamato resultando na morte neuronal por toxicidade (Hartmann, 2011).

Os gatos FIV positivos têm cerca de cinco vezes mais probabilidade de desenvolver linfoma (sobretudo com origem nas células B) ou leucemia quando comparados com gatos não infectados (Hosie *et al.*, 2009; Hartmann, 2011; MacLachlan & Dubovi, 2011; ABCD, 2012a; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013). Outros tumores também já foram descritos incluindo, carcinoma das células escamosas, fibrossarcoma e mastocitomas (Hartmann, 2011; Sykes, 2013). A prevalência de FIV num grupo de gatos com linfoma é 50% maior do que a prevalência de FIV numa população de gatos sem linfoma (Gabor *et al.*, 2001; citado por Hartmann, 2011; Sellon & Hartmann, 2012).

Também está descrito a possibilidade de ocorrerem problemas reprodutivos (Weaver *et al.*, 2005, citado por ABCD, 2012a) podendo haver altas taxas de mortalidade de neonatos (Sellon & Hartmann, 2012) e abortos (Sykes, 2013).

Têm sido descritas alterações laboratoriais em gatos infectados pelo FIV mas não são específicas nem patognomónicas (Sellon & Hartmann, 2012).

Durante a fase aguda da infeção, o animal pode apresentar leucopénia (Levy *et al.*, 2008a) neutropénia e linfocitopénia que se resolve com a entrada na fase assintomática (Grace, 2011; Sellon e Hartmann, 2012). Durante a fase assintomática, os valores das análises hematológicas e bioquímicas encontram-se dentro dos limites de referência mas pode ocorrer leucopénia (Sellon & Hartmann, 2012). Porém, também tem sido observado em gatos assintomáticos anemia não-regenerativa, leucopénia e neutropénia, trombocitopenia ou combinações de citopénias, incluindo pancitopenia (Sellon & Hartmann, 2012). A neutropénia é a alteração hematológica mais comum (Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013). A linfopénia é causada principalmente pela diminuição das células CD4<sup>+</sup> (Sellon & Hartmann, 2012). Uma forma de obter informação acerca do estadio da infeção, seria pela contagem de linfócitos CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>, no entanto, este processo é complexo e não existem valores de referência para a espécie, daí não ser uma prática utilizada por rotina (Hosie *et al.*, 2009).

As análises bioquímicas revelam poucas alterações (Sellon & Hartmann, 2012). No entanto, pode ocorrer diminuição da concentração de aspartato aminotransferase (AST) e glutamato desidrogenase e aumento das concentrações de proteínas totais (PT) e de  $\gamma$ -globulinas

(Duarte *et al.*, 2012). O aumento das PT é causado pela hiperglobulinémia (Sellon & Hartmann, 2012).

Poderão ser observadas alterações renais (azotémia) ou oculares devido à hipergamaglobulinémia que leva a um aumento de imunocomplexos circulantes podendo ocorrer a sua deposição nos rins e na úvea originando glomerulonefrites e uveítes, respetivamente (Hartmann, 2011; MacLachlan & Dubovi, 2011; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013). O animal seropositivo também pode apresentar glaucoma, com ou sem uveíte, degeneração da retina e hemorragia da retina (Sellon & Hartmann, 2012). A proteinúria deve-se ao comprometimento renal devido à glomerulonefrite que o gato FIV positivo desenvolve frequentemente (Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012a; Sykes, 2013).

## **2.5. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL**

O diagnóstico do FIV pode ser realizado por métodos de deteção do antígeno e/ou anticorpo. A escolha do método a utilizar deve ter em conta a prevalência do vírus na população. Quando a prevalência de FIV é baixa o valor preditivo de um teste diminui podendo aumentar os resultados falsos-positivos (Gruffydd-Jones, 2009). Quando a prevalência de FIV é baixa e o resultado positivo, existe uma probabilidade superior a 50% de o animal não estar infetado, pelo que esta amostra deverá ser sempre testada com um teste com maior especificidade, sobretudo se o gato não apresentar qualquer sintoma da infeção. Pelo contrário, um resultado negativo em populações com baixa prevalência de FIV é sempre mais fiável, mesmo quando a especificidade do teste não seja muito elevada (Jacobson, 1991).

### **2.5.1. DETEÇÃO DO ANTIGÉNIO**

Com a introdução da vacinação contra o FIV surgiu o problema de interpretar os testes que detetam Ac contra o vírus, sendo necessário recorrer a outros métodos de confirmação da infeção (Sellon & Hartmann, 2012). Ao contrário do que acontece na infeção pelo FeLV, os gatos FIV positivos possuem baixas cargas virais durante a maior parte da sua vida, de modo que até à data não foi possível conceber testes *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA) de rastreio baseados na deteção do antígeno (Dunham & Graham, 2008; Levy *et al.*, 2008a; Sellon & Hartmann, 2012). Como técnicas utilizadas para determinar o verdadeiro estado de infeção de um gato através da pesquisa do vírus ou do seu provírus temos o isolamento viral e a *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Sellon & Hartmann, 2012).

#### **2.5.1.1. Isolamento Viral**

É o método de diagnóstico mais fiável mas mais trabalhoso, dispendioso e exige técnicos especializados, não sendo o mais utilizado na rotina (Dunham & Graham, 2008; Gruffydd-Jones, 2009; Hosie *et al.*, 2009; MacLachlan & Dubovi, 2011; Sellon & Hartmann, 2012).

Consiste em recolher sangue periférico para tubos com heparina e cultivar os respetivos linfócitos com células T primárias de felino durante 2-3 semanas. A presença do vírus é confirmada pela medição dos níveis de proteínas virais presentes nos fluidos da cultura (Hosie *et al.*, 2009).

#### **2.5.1.2. PCR**

A PCR permite detetar o FIV ou o provírus (Dunham & Graham, 2008) sendo necessário equipamentos sofisticados. Assim, esta técnica de diagnóstico só pode ser realizada em laboratórios especializados (Sellon & Hartmann, 2012). Este método apresenta uma sensibilidade e especificidade muito variável desde 40 a 100% (Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009; MacLachlan & Dubovi, 2011; ABCD, 2012a). Este teste é útil nos casos em que o animal tem o provírus mas não produz Ac contra o FIV (Sellon e Hartmann, 2012) ou para confirmação da infeção em gatos com testes de pesquisa de Ac positivos (Grace, 2011). Normalmente, a PCR deteta sem dificuldade o subtipo A mas a sua capacidade de identificar os outros subtipos é bastante variável (Hosie *et al.*, 2009). Como resultado podem ocorrer falsos-negativos devido à carga viral estar abaixo do limite de deteção ou pelo facto dos *primers* utilizados não reconhecerem todas as estirpes do FIV (Dunham & Graham, 2008). Quando a serologia e a PCR são comparados podem ocorrer resultados discordantes (Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012a). Por exemplo, um gato ser seropositivo e ter um resultado à PCR negativo pode ser explicado pelo facto do animal estar infetado por um subtipo de FIV que não é reconhecido à PCR e não pela ausência de infeção (Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012a). Também pode ser encontrado um gato seronegativo e positivo à PCR, isto pode acontecer quando este vive em contato íntimo com animais infetados por FIV e possua o provírus sem no entanto desenvolver níveis de Ac ou de doença detetáveis, sendo estes animais considerados infetados (Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012a).

#### **2.5.2. DETEÇÃO DE ANTICORPOS**

São testes que pesquisam os Ac que reconhecem proteínas estruturais virais como a proteína da cápside p24 e a gp41 (Hartmann *et al.*, 2007; Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012a). Estes testes são os mais utilizados uma vez que o título de Ac contra o FIV é elevado (Dunham & Graham, 2008). No entanto, não é possível a distinção entre os Ac que resultaram da infeção natural e dos adquiridos por vacinação ou pelo colostro materno, sendo necessário melhorar os métodos de diagnóstico (Dunham & Graham, 2008; Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009; Grace, 2011). Assim, quando uma ninhada é testada deve-se ter em conta o estatuto de infeção da mãe: se esta se encontrar infetada, as crias podem apresentar resultados falso-positivos até aos 4 a 6 meses de vida pelo que só deverão ser testados a partir dessa idade (Dunham & Graham, 2008; Hosie *et al.*, 2009; Grace, 2011; Sellon & Hartmann, 2012; Gil & Leal, 2012; Sykes, 2013). Um animal sujeito a

transfusão sanguínea com sangue proveniente de um felino vacinado contra o FIV, também irá exibir serologia positiva durante semanas ou meses (Grace, 2011).

No Japão já está disponível um novo tipo de teste serológico, baseado em ELISA, capaz de distinguir os Ac vacinais de verdadeira infecção por FIV (Levy *et al.*, 2008a; Grace, 2011; Sellon e Hartmann, 2012).

Como testes de detecção de Ac temos o ELISA, a imunocromatografia, o *Western Blot* e a imunofluorescência indireta (IFI) (Hosie *et al.*, 2009).

#### **2.5.2.1. ELISA**

Este método de diagnóstico consiste em detetar Ac contra o antígeno p24 (Gruffydd-Jones, 2009; Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012a; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013). Apesar da possibilidade de ocorrência de alguns falsos-positivos ou falsos-negativos, o ELISA é muito utilizado como teste de rotina pois apresenta uma sensibilidade de 98,3% e uma especificidade de 100% (Courchamp *et al.*, 1998; Levy *et al.*, 2006; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013). Os resultados falsos-positivos podem ocorrer devido à detecção de anticorpos contra o FIV provenientes de uma vacinação ou de progenitoras vacinadas ou infectadas pelo FIV (Levy *et al.*, 2006; Gruffydd-Jones, 2009). Em consequência de uma concentração baixa de anticorpos, que pode ocorrer numa fase em que o indivíduo ainda não seroconverteu ou encontra-se numa fase terminal da doença, o resultado pode gerar um falso-negativo (Levy *et al.*, 2006; Hosie *et al.*, 2009; Ford, 2011; MacLachlan & Dubovi, 2011; Sykes, 2013). Um falso-negativo também pode ocorrer devido a erros técnicos de execução do teste, uso de sangue total em vez de soro (Sellon & Hartmann, 2012) ou quando existe elevada concentração do vírus no sangue que leva ao sequestro dos Ac anti-FIV em imunocomplexos (Hosie *et al.*, 2009). Quando o resultado é positivo e o animal não pertence a um grupo de risco, é assintomático e a prevalência de FIV na população em que se insere é baixa, os resultados devem ser confirmados (Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012). Em contrapartida quando o gato pertence a um grupo de risco (estilo de vida, adulto, macho inteiro) é provável que seja um verdadeiro positivo (Hosie *et al.*, 2009). Em contraste, resultados negativos em gatos provenientes de populações de baixa prevalência, são geralmente muito precisos devido à elevada sensibilidade do ELISA (Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009; Grace, 2011; ABCD, 2012a; Sellon & Hartmann, 2012). Para evitar comunicar resultados falsos-positivos, os soros positivos ao ELISA, devem ser confirmados pelo *Western Blot* (Courchamp *et al.*, 1998; Levy *et al.*, 2006; Ford, 2011) ou pela imunofluorescência (IF) (Grace, 2011).



#### **2.5.2.2. Imunofluorescência Indireta**

A IFI é um método de diagnóstico rápido e barato (Mahony *et al.*, 1989) mas que exige experiência pois a sua interpretação envolve algum grau de subjetividade (Gallo *et al.*, 1986). É menos específico que o ELISA (Grace, 2011; Sellon & Hartmann, 2012).

#### **2.5.2.3. Imunocromatografia**

Este teste é baseado na técnica de ELISA. Consiste em detetar Ac que reconhecem pequenos péptidos da proteína transmembranar e posterior migração do complexo antígeno-anticorpo num filtro de nitrocelulose (Hosie *et al.*, 2009; MacLachlan & Dubovi, 2011). Adiciona-se um reagente com uma substância cromogénica que no caso de um resultado positivo exibe uma banda colorida (MacLachlan & Dubovi, 2011).

A sua especificidade é inferior a 100% (Hosie *et al.*, 2009).

#### **2.5.2.4. Western Blot**

É o teste serológico considerado como “*gold standard*” e é utilizado para confirmar resultados inconclusivos (Hartmann *et al.*, 2007; Dunham & Graham, 2008; Hosie *et al.*, 2009; Sykes, 2013).

O FIV purificado é separado por eletroforese permitindo a exposição das suas proteínas estruturais facilitando a deteção de Ac contra cada proteína do FIV (Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012a).

### **2.6. TRATAMENTO**

Os gatos infetados com FIV não devem ser eutanasiados só pelo facto do resultado do teste ser positivo (Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009; Gil & Leal, 2012; Sykes, 2013). Desde que se proporcione os cuidados adequados, os gatos infetados com FIV podem viver durante muitos anos com boa qualidade de vida (Hosie *et al.*, 2009; Little *et al.*, 2011; Sellon & Hartmann, 2012). O gato FIV positivo deve ser mantido isolado para evitar que contraia outras infeções e para cortar o ciclo de transmissão a outros animais suscetíveis (Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012). Também é aconselhável a esterilização com o intuito de reduzir o stress associado ao estro, diminuir a agressividade e a defesa do domínio territorial, contribuindo assim para a diminuição do contato com os gatos vizinhos que irá contribuir para diminuir o risco de transmissão do vírus (Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012). Nas fêmeas, a esterilização permite evitar situações de stress devidas ao estro, gravidez e lactação, e também a transmissão do vírus às crias (Levy *et al.*, 2008a; Grace, 2011).

Os felinos infetados pelo vírus devem realizar consultas de rotina de 6 em 6 meses, onde são examinados clinicamente, é monitorizado o peso e realizados testes laboratoriais (hematologia, bioquímicas e urianálise) (Hosie *et al.*, 2009).

### 2.6.1. TRATAMENTO DE SUPORTE

O manejo clínico de gatos infectados por retrovírus baseia-se em grande parte numa terapêutica sintomática, aplicada sempre que necessário e variando de acordo com os sinais clínicos exibidos pelo animal (Duarte *et al.*, 2012). O diagnóstico rápido e preciso de infeções secundárias e de agentes oportunistas, é essencial, de forma a ser instituída uma terapêutica precoce e eficaz (ABCD, 2012a; Duarte *et al.*, 2012; Sellon & Hartmann, 2012). No entanto, o tratamento sintomático de gatos FIV positivos resume-se a períodos de fluídoterapia e ao controlo de infeções concomitantes (Duarte *et al.*, 2012; Hosie *et al.*, 2009). Quando as infeções concomitantes são identificadas, o tratamento com antibióticos ou antifúngicos adequados deverá ser implementado (Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013).

A griseofulvina não deve ser utilizada em gatos infectados por FIV uma vez que a sua administração pode causar supressão da medula óssea (MO) com surgimento de neutropenia grave (Shelton *et al.*, 1990, citado por Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013). O itraconazol é uma boa opção como antifúngico sistémico para a terapêutica de dermatofitoses (Sellon & Hartmann, 2012).

Alguns clínicos referem o uso de corticosteroides e de outros fármacos imunossupressores como sendo benéficos no tratamento sintomático de gatos FIV positivos, sobretudo nos casos de gengivo-estomatite crónica. Porém, o seu uso continua controverso (Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012). Em infeções agudas foi observado o aumento da virémia plasmática e a diminuição das células CD8+ (Sellon & Hartmann, 2012). Devido a esses efeitos, o tratamento com corticosteroides ou outras drogas imunossupressoras devem ser evitados, a menos que exista uma forte indicação para a sua utilização (Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013). A extração completa de todos os dentes parece ser do consenso geral na melhoria da gengivo-estomatite crónica (Sellon & Hartmann, 2012).

Em gatos FIV positivo que apresentem neutropénias graves pode ser administrado um fator de estimulação de granulócitos recombinante humano (rHuG-CSF, Filgastrim), 5 µg/kg por via SC a cada (q) 12 horas (h) durante uma a duas semanas (Sellon & Hartmann, 2012). Contudo, o uso desta citoquina pode não só aumentar as contagens de neutrófilos, como também pode aumentar a carga viral e a produção de anticorpos neutralizantes (Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013).

Quando os gatos seropositivos apresentem uma anemia não-regenerativa devido a deficiência de eritropoietina (EPO) endógena por doença renal crónica e/ou por supressão da MO, recorre-se à eritropoietina recombinante humana (rHu-EPO) numa dose de 100 UI/kg, q 48h, por via SC até o hematócrito recuperar o valor desejado (Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012a; Sellon & Hartmann, 2012). O uso, de rHu-EPO, é seguro uma vez que não se observou um aumento da carga viral (Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013).

Em gatos jovens, experimentalmente infectados com FIV, está descrito o uso do fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1) como parte da terapêutica sintomática. Este composto recombinante humano (rHuIGF-1) vai acelerar a divisão de células do timo e estimular a função das células T regenerando e potenciando uma resposta imunitária celular. No entanto são necessários mais estudos que demonstrem a sua eficácia nesta área (Hosie *et al.*, 2009).

## **2.6.2. TRATAMENTO ESPECÍFICO**

A maioria dos fármacos antivirais utilizados em gatos está apenas licenciado para o tratamento de indivíduos HIV positivos. Para além de serem dispendiosos, muitos são tóxicos e/ou ineficazes em gatos, o que torna pouco frequente o recurso a estes medicamentos na prática clínica (Hosie *et al.*, 2009; Duarte *et al.*, 2012) sendo ainda escasso o número de estudos publicados que suportam a sua utilização em Medicina Veterinária (Sellon & Hartmann, 2012).

Têm sido utilizados com sucesso no tratamento do HIV inibidores da protease específicos para retrovírus (Sellon & Hartmann, 2012). Foi desenvolvido a nível experimental uma molécula denominada TL-3, capaz de prevenir a infeção pelo FIV. A TL-3 quando administrada em animais infectados pelo FIV pode reduzir a sintomatologia neurológica (Sellon & Hartmann, 2012).

### **2.6.2.1. AZT (Azidotimidina)**

O AZT é um fármaco derivado da timidina que bloqueia a transcriptase reversa do retrovírus, impedindo a sua integração no DNA genómico da célula hospedeira (Hosie *et al.*, 2009; Duarte *et al.*, 2012). Tem a capacidade de se integrar na cadeia de DNA em formação impedindo a infeção de novas células por parte do vírus (Sellon & Hartmann, 2012). Assim obtemos uma inibição da replicação do FIV que origina uma redução da carga viral plasmática e uma melhoria clínica e imunológica dos gatos FIV positivos, promovendo a sua qualidade de vida (Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012). O AZT melhorou a estomatite, a sintomatologia neurológica e o rácio CD4+/CD8+ num estudo realizado em gatos naturalmente infectados (Hartmann *et al.*, 1995, citado por Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012).

A dose recomendada é de 5-10mg/kg, q 12h, por via PO ou SC até se observar melhoria clínica (Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012). A administração deve ser monitorizada devido aos efeitos colaterais que podem desenvolver-se. Assim, ao ser administrado por via SC e para prevenir a irritação no local da injeção, recomenda-se a diluição do liofilizado em solução isotónica de cloreto de sódio (NaCl) (Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012). Durante o tratamento, e especialmente quando se administra altas doses, deve-se realizar hemogramas completos semanalmente, durante o primeiro

mês, devido à possibilidade de ocorrência de anemia não-regenerativa (Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012). Se os valores se mantiverem estáveis os exames podem passar a mensais (Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012). Estudos realizados demonstraram que os gatos toleram bem até dois anos de tratamento com AZT (Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012). Alguns gatos podem apresentar uma ligeira diminuição no hematócrito nas primeiras três semanas, porém este tende a normalizar com a continuação do tratamento (Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012). No entanto, se o hematócrito descer abaixo dos 20%, o tratamento deve ser interrompido (Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013). Gatos que apresentem supressão medular, não devem ser submetidos a este tratamento devido ao risco de anemia (Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013). Nos gatos com diminuição da função renal a dose deverá ser reduzida para evitar acumulação tóxica (Sellon & Hartmann, 2012). Como acontece no HIV, no FIV também podem surgir mutações no genoma do FIV que o tornem resistentes ao AZT. Estão descritas 6 meses após o início do tratamento (Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012).

#### **2.6.2.2. AMD3100**

O AMD3100 é um antagonista seletivo do recetor CXCR4 (Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013). O AMD3100 é um recetor específico de quimiocinas utilizado pelo HIV para a sua entrada nas células T. Assim, o recetor é bloqueado pelo AMD3100 que consequentemente inibe a entrada do vírus nas células (Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012) evitando a replicação viral (Sellon & Hartmann, 2012).

Há estudos que demonstraram que o AMD3100 também é eficaz contra o FIV, tendo os gatos infetados, apresentado uma melhoria significativa dos sinais clínicos e uma diminuição da carga viral (Hosie *et al.*, 2009). Durante o tratamento devem ser monitorizados regularmente os valores de magnésio e de cálcio (Sellon & Hartmann, 2012). No entanto, este composto não está licenciado para uso em Medicina Veterinária (Hosie *et al.*, 2009).

Está em fase de estudo a inibição da infeção pelo bloqueio do recetor CD134 (Sellon & Hartmann, 2012).

#### **2.6.3. IMUNOMODULADORES E INDUTORES DO INTERFERÃO**

Apesar de não existir estudos que suportam os efeitos benéficos destes compostos na terapêutica, estes fármacos são largamente utilizados como estimuladores inespecíficos do sistema imunitário em gatos infetados pelo FIV (Hosie *et al.*, 2009). Não existem evidências conclusivas a partir de estudos controlados de que estes compostos possuam efeitos benéficos sobre a saúde ou a sobrevivência de gatos infetados por FIV, sejam sintomáticos ou assintomáticos (ABCD, 2012a; Sellon & Hartmann, 2012). A estimulação inespecífica do sistema imunitário através da utilização de imunomoduladores ou dos indutores do interferão

pode conduzir ao aumento da replicação viral através da ativação das células infetadas (macrófagos e linfócitos) em estado latente contribuindo para a progressão da doença (Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012a). Assim sendo está contraindicado a utilização de imunomoduladores inespecíficos e com efeitos secundários desconhecidos em gatos FIV positivos (Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012a).

#### **2.6.3.1. Interferões**

O interferão (IFN) é uma citocina com propriedades antivirais, imunomoduladoras e antineoplásicas, específica de cada espécie (Hosie *et al.*, 2009; Duarte *et al.*, 2012; Gil *et al.*, 2013). Em Medicina Veterinária, destacam-se dois tipos de interferão na prática clínica: o interferão alfa (IFN- $\alpha$ ) humano e o interferão ómega recombinante felino (rFeIFN- $\omega$ ) (Duarte *et al.*, 2012; Gil *et al.*, 2013).

##### **2.6.3.1.1. IFN- $\alpha$ Humano**

Esta citocina foi a primeira a ser avaliada na prática clínica felina (Doménech *et al.*, 2011). Este composto tem efeito antiviral e imunomodulador (Hosie *et al.*, 2009). Existem duas possibilidades de tratamento, uma por via SC com alta dose,  $10^5 - 10^6$  UI/kg q 24h até 6 a 7 semanas, e uma por via PO em que se administra uma baixa dose, 1 - 50 UI por gato q 24h durante 7 dias em semanas alternadas durante 6 meses, seguido de uma pausa de 2 meses e repetindo o tratamento mais 6 meses (Levy *et al.*, 2008a; ABCD, 2012a; Sellon & Hartmann, 2012). A administração parentérica de IFN- $\alpha$  parece conduzir a um maior efeito antiviral que a administração por via oral, talvez devido à menor absorção do IFN a nível gastrointestinal, no entanto possibilita a estimulação local do tecido linfoide da cavidade oral (Sellon & Hartmann, 2012). Ainda que conduza a melhoria clínica e ao aumento da esperança de vida em gatos infetados, o IFN- $\alpha$  recombinante humano apresenta uma séria desvantagem pois não sendo específico da espécie felina torna-se ineficaz ao fim de 5-6 semanas após início do tratamento promovendo o aparecimento de Ac neutralizantes e causando efeitos adversos (Doménech *et al.*, 2011; Duarte *et al.*, 2012).

##### **2.6.3.1.2. IFN- $\omega$ Felino**

Foi recentemente desenvolvido e licenciado para uso em Medicina Veterinária em alguns países europeus, Japão, México (Hosie *et al.*, 2009; Duarte *et al.*, 2012; Sellon & Hartmann, 2012), Austrália e Nova Zelândia (Doménech *et al.*, 2011). Este imunomodulador inibe com eficácia a replicação do FIV *in vitro* (Sellon & Hartmann, 2012). O regime terapêutico consiste na administração de  $10^6$  UI/kg de peso vivo, por via SC a q 24h durante 5 dias consecutivos em 3 ciclos sendo iniciados aos dias 0, 14 e 60 (Doménech *et al.*, 2011; Sellon & Hartmann, 2012; Gil *et al.*, 2013). Recentemente foi testado por Gil *et al.* (2014), um novo protocolo com o rFeIFN- $\omega$  em que consiste na administração de 0,1 UM/gato, q 24h, PO

durante 90 dias consecutivos. Este interferon uma vez que é homólogo da molécula felina pode ser utilizado com segurança ao longo da vida do animal sem estimular a produção de Ac neutralizantes (Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012a; Sellon & Hartmann, 2012; Gil *et al.*, 2013). Não foram relatados efeitos colaterais em felinos (ABCD, 2012a). Em estudos *in vitro* esta citocina revelou ser eficaz contra o FIV, mas um estudo realizado em gatos de vida livre, os animais não revelaram alterações significativas na taxa de sobrevivência (Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012a; Sellon & Hartmann, 2012). Doménech *et al.* (2011) demonstram que o tratamento com este IFN por via SC melhora o quadro clínico bem como os parâmetros do hemograma. Gil *et al.* (2013) demonstraram que o rFeIFN- $\omega$  administrado por via SC melhora os sinais clínicos e diminui a excreção viral. O protocolo PO demonstrou melhoria dos sinais clínicos embora a diminuição da excreção viral e dos valores de proteínas totais não tenha sido significativa (Gil *et al.*, 2014). Continuam a ser necessários mais estudos para avaliar a eficácia deste composto (Sellon & Hartmann, 2012).

## **2.7. PROGNÓSTICO**

O FIV não é uma doença que cause morte súbita (Gil & Leal, 2012). A esperança de vida dos gatos infetados é muito variável e nalguns casos, os animais infetados podem viver tanto ou mais tempo que os gatos sãos (Gleich *et al.*, 2009; Duarte *et al.*, 2012; Gil & Leal, 2012) e usufruir de uma boa qualidade de vida desde que acompanhados clinicamente e mantidos em ambiente adequado (Little *et al.*, 2011; Duarte *et al.*, 2012).

Com base em estudos experimentais, concluiu-se que os gatos infetados numa idade muito jovem e os geriátricos são mais propensos a evoluir até um estado de imunodeficiência (Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012a; Sykes, 2013).

Mais de 50% dos animais permanecem assintomáticos durante quatro a seis anos após a infeção, e cerca de 20% acabam por morrer durante este período (Grace, 2011), sendo o tempo médio de sobrevivência após o diagnóstico de cinco anos (Levy *et al.*, 2008a).

## **2.8. PREVENÇÃO E CONTROLO**

A prevenção e o controlo de infeções por FIV exigem a identificação e a segregação dos gatos infetados (Hartmann *et al.*, 2007; Levy *et al.*, 2008a; Duarte *et al.*, 2012; Sellon & Hartmann, 2012). Deve-se ter sempre em consideração os fatores de risco na opção por medidas preventivas que mitiguem o risco de ocorrerem infeções secundárias que possam deteriorar o estado hígido dos animais, assim como de prevenir a disseminação do FIV na população.

Os animais seropositivos, por estarem imunossuprimidos, devem ser isolados para evitar não só a possível transmissão de outras doenças ao animal infetado como para evitar a disseminação da infeção pelo FIV. Ao impedir o contacto com outros animais contraria-se o

potencial de transmissão do FIV (Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009; Grace, 2011; Duarte *et al.*, 2012; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013).

É recomendável a esterilização de todos os animais FIV positivos a fim de, reduzir a agressividade e diminuir a frequência de mordeduras (Hosie *et al.*, 2009; Little *et al.*, 2011; Gil & Leal, 2012; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013).

Uma vez que o gato seropositivo é muito suscetível a infecções secundárias, este deve estar sob o olhar atento do dono e sujeito a um acompanhamento regular pelo médico veterinário assistente (Gil & Leal, 2012). Na prática, os animais deverão ser observados com uma periodicidade de 3 a 6 meses, sendo realizado um *check-up* geral que inclui as análises sanguíneas básicas (Hosie *et al.*, 2009; Gil & Leal, 2012; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013). É muito importante a monitorização do peso, visto este ser por vezes, o primeiro sinal de deterioração do estado de saúde (Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009). Nestas consultas deve-se fazer sempre uma avaliação da cavidade oral, linfonodos, olhos e pele (Levy *et al.*, 2008a). É recomendável a realização pelo menos semestral de testes laboratoriais como hematologia, bioquímicas e urianálise (Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009; Sellon e Hartmann 2012).

A desparasitação interna e externa deverá ser realizada periodicamente, de acordo com os protocolos instituídos (Levy *et al.*, 2008a; Sellon & Hartmann, 2012), e idealmente, após a realização de exames coprológicos.

Deverá ser fornecida uma dieta nutricionalmente equilibrada, com ausência de carne crua e de produtos lácteos, devido ao risco de infeção com bactérias ou parasitas de origem animal (Levy *et al.*, 2008a; Sellon & Hartmann, 2012).

Quando em ambiente hospitalar e tendo em conta a fragilidade da resposta imunitária que o gato FIV positivo apresenta, este deve ser internado numa jaula individual no isolamento internamento de doenças infecto-contagiosas. Os dadores de sangue deverão ser testados previamente. Todos os objetos potencialmente contaminados com sangue ou saliva (instrumentos cirúrgicos, material de administração de medicação, comedouros/bebedouros, etc.) de um animal infetado deverão ser esterilizados (Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009; Little *et al.*, 2011; Sykes, 2013).

Regra geral, a cirurgia, é bem tolerada pelos gatos assintomáticos, devendo ser sempre administrado antibiótico de largo espectro após todos os procedimentos cirúrgicos e dentários (Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013).

A realização do rastreio serológico para deteção de FIV em animais que serão introduzidos em ambientes com outros gatos é importante (Levy *et al.*, 2008a; Duarte *et al.*, 2012; Sykes, 2013). É aconselhável um período de quarentena de seis a oito semanas antes da realização do teste por forma a permitir que animais recentemente infetados desenvolvam níveis de anticorpos detetáveis (European Advisory Board on Cat Diseases [ABCD], 2012c; Duarte *et al.* 2012; Sykes, 2013). Numa “família” de gatos, quando um é diagnosticado com

FIV, todos os restantes animais devem ser testados (Hosie *et al.*, 2009). Há que salientar que a estirpe e ou a carga viral presente na saliva são fatores que influenciam o risco de transmissão entre os gatos de uma “família” (ABCD, 2012a).

Nos gatis de autarquias, associações, hotéis, etc., devem ser implementadas uma série de medidas destinadas a reduzir a propagação de doenças infecciosas nomeadamente boas condições de alojamento, existência de uma ala de quarentena, boa higiene e alimentação, mitigar o stress e fazer testes de diagnóstico de doenças infecciosas à entrada e durante a estadia dos gatos (ABCD, 2012c). A European Advisory Board on Cat Diseases (ABCD) recomenda que todos os gatos devem ser testados para FIV. Quando esta estratégia não for possível, pelo menos os gatos doentes devem ser testados e considerada a eutanásia nos animais que apresentem sinais clínicos compatíveis com a fase avançada da infeção por FIV (Hosie *et al.*, 2009).

Não sendo possível o alojamento individual, os gatos FIV positivos devem ser agrupados e isolados dos restantes gatos do gatil para reduzir a incidência (Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012c; Gil & Leal, 2012). Existe a possibilidade de gatos FIV positivos aparentemente saudáveis serem adotados numa situação onde o risco de infeção de outros gatos seja mínimo (vive exclusivamente no interior de casa e é o único gato), sendo necessário informar os futuros donos sobre o FIV e as suas consequências (ABCD, 2012a; ABCD, 2012c). Ainda em relação ao alojamento devem projetar-se quatro áreas distintas que ajudam no controlo das doenças infecciosas, uma área de quarentena, uma área de isolamento para gatos doentes ou potencialmente infecciosos, uma área para os animais clinicamente saudáveis e uma área para fêmeas gestantes, lactantes e gatinhos (ABCD, 2012c).

Nos reprodutores usados para criação, o FIV é raro uma vez que estes animais se encontram normalmente num meio controlado e resguardado, e são testados anualmente por rotina (ABCD, 2012a). No entanto, o ABCD (2012a) recomenda que quando os progenitores se deslocam para acasalamento devem ser acompanhados por um atestado que confirma que são FIV negativos. Num caso em que um animal reprodutor fuja, após recuperação, deve ser re-submetido a testes serológicos, quarentena de três meses e se mantiver seronegativo, então é reinserido no grupo (Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012a).

Como o vírus possui um invólucro lipídico, é facilmente inativado pelo calor, solventes orgânicos e todo o tipo de desinfetantes, incluindo o sabão comum (Hosie *et al.*, 2009; Little *et al.*, 2011; MacLachlan & Dubovi, 2011; Sellon & Hartmann, 2012; Scherk *et al.*, 2013a). No meio ambiente, o vírião sobrevive minutos (Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012; Scherk *et al.*, 2013a; Sykes, 2013).



### 2.8.1. VACINAÇÃO

É controversa a opinião em relação à vacinação de rotina (considerada essencial, FHV, FCV, parvovírus (FPV)) em gatos FIV positivos devido à estimulação imunitária causada pela vacina que pode ativar a progressão da doença em primeiro lugar por promover um desequilíbrio entre o sistema imunitário e o vírus, e em segundo lugar, porque é conhecido que *in vitro*, a estimulação de linfócitos infectados com FIV promove a produção do retrovírus (Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012a; Sellon & Hartmann, 2012). A ABCD, não recomenda a vacinação com vacinas vivas atenuadas em gatos positivos (ABCD, 2012c). É aconselhada a utilização de vacinas inativadas em detrimento das vacinas vivas atenuadas, devido ao risco de estas últimas readquirirem poder patogénico (Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012).

Os gatos FIV positivos assintomáticos desenvolvem numa fase inicial da infeção uma resposta imunitária eficiente similar à produzida por gatos saudáveis (Levy *et al.*, 2008a; Hosie *et al.*, 2009; Sellon & Hartmann, 2012). Porém, desconhece-se se os gatos em fases mais avançadas da doença com imunodeficiência, desenvolvem uma resposta adequada à vacinação (Hosie *et al.*, 2009). Os potenciais benefícios e riscos devem ser ponderados para cada caso considerando as condições de vida e o ambiente em que o animal se insere (Hosie *et al.*, 2009). Por exemplo, num gato adulto que vive em exclusivo no interior de uma habitação, pode-se prescindir da vacinação de rotina, porém em gatos de vida semilivre ou livre é recomendável o cumprimento de um calendário de vacinação que abranja o FPV, o FCV, o FHV, e o FeLV (Hosie *et al.*, 2009).

Atualmente, não existe nenhuma vacina contra o FIV disponível comercialmente na Europa (Hosie *et al.*, 2009) sendo complicado prevenir a infeção (Gil & Leal, 2012). Existem vacinas contra os subtipos A e D do FIV que são utilizadas nos Estados Unidos (desde 2002) e na Austrália e Nova Zelândia (desde 2004), no entanto nenhuma é 100% eficaz na proteção contra a infeção pelos subtipos A e D sendo ineficazes na prevenção da maioria dos subtipos Europeus: A, B e F (Hosie *et al.*, 2009; Duarte *et al.*, 2012; Sellon & Hartmann, 2012). Assim a ABCD, não recomenda o uso vacina na Europa, devido aos problemas associados com o diagnóstico sorológico e à falta de evidência de eficácia da vacina contra as estirpes que circulam na Europa (Hosie *et al.*, 2009; ABCD, 2012a). O grande obstáculo da vacinação contra o FIV é a elevada diversidade genética do FIV (Sellon & Hartmann, 2012). No entanto, existem gatos vacinados que são importados ou que simplesmente “passam férias” com os seus donos em países onde circulam outros subtipos do FIV para os quais continuam suscetíveis (ABCD, 2012a).

O Fel-O-Vax FIV<sup>®</sup> (Fort Dodge Animal Health, Pfizer) é uma vacina inativada que se encontra disponível na Austrália, Nova Zelândia, USA e Japão (Hosie *et al.*, 2009; Sykes, 2013). Esta vacina confere proteção contra os subtipos A (*Petaluma*) e D (*Shizuoka*) e parece haver alguma proteção cruzada contra o subtipo B mas ainda não foi testada para o

subtipo C (Yamamoto *et al.*, 2002; Kusahara *et al.* 2005, citado por Hayward & Rodrigo, 2010; Grace, 2011; Sellon & Hartmann, 2012; Sykes, 2013).

A possibilidade de emergirem novos subtipos de FIV, uma vez que este vírus apresenta um grande potencial de variação genética, pode ter um impacto considerável sobre a capacidade de proteção da vacina e do seu potencial de utilização (Dunham & Graham, 2008). Assim sendo, é necessário continuar a desenvolver e testar novas vacinas nas populações de gatos (Hayward & Rodrigo, 2010).

A vacina contra o FIV está recomendada em gatos saudáveis a partir das oito semanas de idade (Levy *et al.*, 2008a; Grace, 2011; Scherk *et al.*, 2013a), sendo essencial testar os gatos antes da vacinação para garantir que são negativos (Levy *et al.*, 2008a; Scherk *et al.*, 2013a). A primovacinação consiste na administração de três doses por via SC, com duas a três semanas de intervalo, seguida de revacinações anuais (Levy *et al.*, 2008a; Grace, 2011). A imunidade induzida pela vacina persiste pelo menos doze meses após a vacinação embora a duração real de imunidade protetora seja desconhecida, tendo sido demonstrado que os Ac induzidos pela vacinação persistem por mais de quatro anos em alguns gatos (Scherk *et al.*, 2013a).

A vacina contra o FIV é considerada facultativa, no entanto, está recomendada em animais com alto risco de infeção, ou seja, com acesso ao exterior ou que coabitem com animais infetados pelo FIV (MacLachlan & Dubovi, 2011; Scherk *et al.*, 2013a). Como ainda não estão comercialmente disponíveis testes serológicos discriminatórios, não é possível distinguir entre Ac vacinais e Ac resultantes da infeção natural. Por isso, é sugerido que os gatos vacinados sejam identificados por microchip contendo esta informação na sua base de dados (Levy *et al.*, 2008a; Grace, 2011; Little *et al.*, 2011; Scherk *et al.*, 2013a; Sykes, 2013).

## **2.9. IMPORTÂNCIA NA SAÚDE PÚBLICA**

Apesar de ser semelhante ao HIV, o Homem não é suscetível ao FIV (Hosie *et al.*, 2009; Gil & Leal, 2012; Scherk *et al.*, 2013a) e portanto não há risco para os médicos veterinários nem para as pessoas que coabitam com gatos infetados (Sellon & Hartmann, 2012; Gil & Leal, 2012; Scherk *et al.*, 2013a). Os estudos realizados não conseguiram identificar Ac em humanos que foram mordidos por gatos infetados ou inadvertidamente se injetaram com material contendo o vírus (Sellon & Hartmann, 2012).

No entanto, algumas infeções secundárias que muitos gatos FIV positivos contraem podem ter um potencial zoonótico como as dermatofitoses, toxacariose, criptosporidiose, etc. (ABCD, 2012c).



### 3. LEUCEMIA FELINA

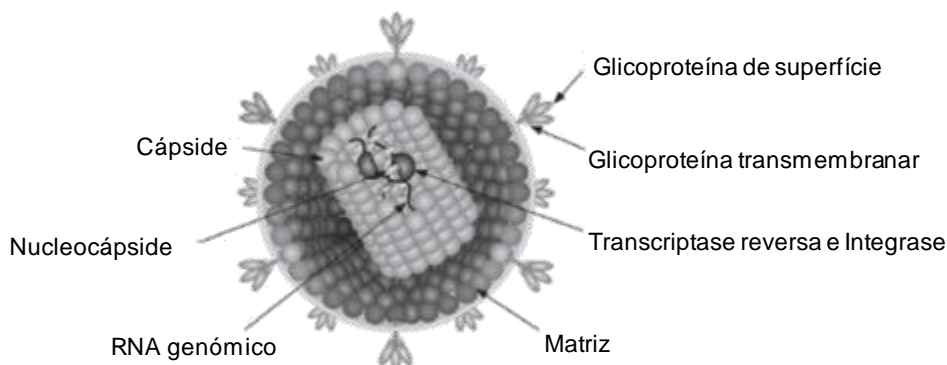
#### 3.1. ETIOLOGIA

O FeLV pertence à família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae*, género *Gammaretrovirus*, tendo sido descoberto pela primeira vez em 1964 pela equipa de William Jarrett (Jarrett *et al.*, 1964, citado por ABCD, 2012b; Lappin, 2006; Dunham & Graham, 2008; Gleich *et al.*, 2009; Hartmann, 2011; Hartmann, 2012; ICTV, 2012).

Este gamaretrovírus infeta felinos domésticos e selvagens, incluindo o gato-bravo (*Felis silvestres*) e o lince Ibérico (*Lynx pardinus*), o lince Europeu (*Lynx lynx*) (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012). Também já foi isolado na pantera da Florida (*Puma concolor coryi*), no lince-pardo (*Felis rufus*) e no gato-do-mato-pequeno (*Leopardus tigrinus*) (Hartmann, 2012).

O virião do FeLV apresenta 80 a 100 nm de diâmetro (MacLachlan & Dubovi, 2011). Sendo um retrovírus, a sua morfologia é semelhante à do FIV, possuindo uma NC rodeada por uma CA icosaédrica e um invólucro lipídico com glicoproteínas (Figura 6) (MacLachlan & Dubovi, 2011; Sykes & Hartmann, 2013).

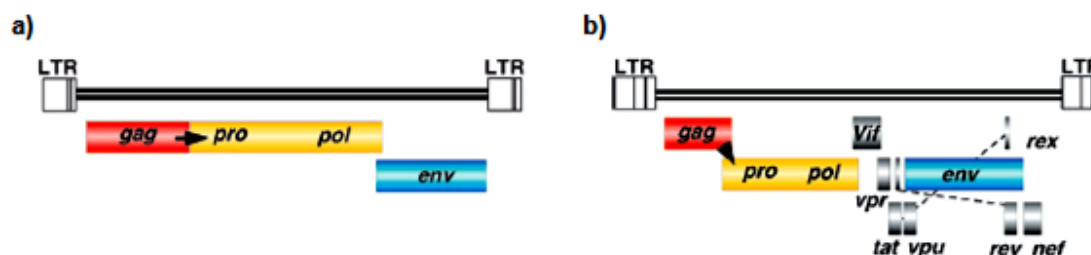
**Figura 6:** Esquema da morfologia do FeLV, adaptado de MacLachlan & Dubovi (2011)



A NC inclui um genoma de RNA de cadeia simples, diploide de sentido positivo associado a uma RT viral e ladeado por duas regiões terminais repetidas (LTR) que regulam a transcrição viral (MacLachlan & Dubovi, 2011; Hartmann, 2012) e têm um importante papel na patogenicidade do vírus (Hartmann, 2012).

O genoma do FeLV inclui três genes estruturais: *gag*, *pol* e *env*, que codificam as principais proteínas estruturais e enzimáticas do vírus (MacLachlan & Dubovi, 2011; Hartmann, 2012). Porém, os  $\gamma$ -retrovírus são menos complexos que os lentivírus pois não têm genes acessórios (Figura 7) (MacLachlan & Dubovi, 2011).

**Figura 7:** Mapa genômico do gênero  $\gamma$ -retrovírus (a) e lentivírus (b), adaptado de MacLachlan & Dubovi (2011)



O gene *gag* codifica as proteínas estruturais do vírus (CA, NC e a Ma) incluindo a p27 que faz parte da CA e é utilizada nos testes de diagnóstico serológico do FeLV (Lutz *et al.*, 2009; MacLachlan & Dubovi, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012). O gene *pol* codifica a PR, a RT e a IN (Lutz *et al.*, 2009; MacLachlan & Dubovi, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012). O gene *env* codifica as proteínas do invólucro viral, a proteína transmembranar, p15e, e a gpSU, gp70, sendo esta última a que determina os subgrupos do FeLV (Lutz *et al.*, 2009; MacLachlan & Dubovi, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012).

No gato doméstico para além deste FeLV exógeno, são conhecidas duas formas de  $\gamma$ -retrovírus que não se transmitem horizontalmente nem são patogénicas: o vírus da leucemia felina endógeno (enFeLV) e o vírus RD114 (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012). São sequências de retrovírus presentes normalmente no genoma felino devido à transmissão vertical e incapazes de produzir partículas virais infecciosas (Hartmann, 2012). No entanto, o enFeLV pode recombinar com o FeLV do tipo A agravando a sua patogenicidade (Hartmann, 2012).

### 3.2. EPIDEMIOLOGIA

O FeLV é classificado em quatro subtipos, A, B, C e T, a partir das diferenças existentes na sequência do gene *env* (Dunham & Graham, 2008; Costa & Norsworthy, 2011; MacLachlan & Dubovi, 2011) e pelas células-alvo que atingem (Lutz *et al.*, 2009; Hartmann, 2012). O subtipo A é ubíquo, sendo isolado em todos os gatos infetados. É o único subtipo transmissível entre felinos (Dunham & Graham, 2008; Lutz *et al.*, 2009; Costa & Norsworthy, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013), sendo moderadamente patogénico mas altamente contagioso (Hartmann, 2012). O subtipo B está presente em cerca de 50% dos gatos infetados pelo FeLV, enquanto o subtipo C apenas em 1% (Roy-Burman, 1995, citado por Dunham & Graham, 2008).

A formação do FeLV-B e C só é possível devido ao FeLV-A (Hartmann, 2012). O subtipo B origina-se da recombinação entre o FeLV-A e o enFeLV (Dunham & Graham, 2008; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). Experimentalmente, este subtipo tende a causar linfomas, frequentemente do timo (Costa & Norsworthy, 2011;

Hartmann, 2012). O subtipo C é raro e resulta de mutações ao nível do gene *env* do FeLV-A (Dunham & Graham, 2008; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013) causando o desenvolvimento rápido de anemia não-regenerativa fatal (Dunham & Graham, 2008; Costa & Norsworthy, 2011; Hartmann, 2012). O subtipo T resulta de múltiplas mutações do gene *env*, revela um forte tropismo para os linfócitos T e é altamente citolítico, causando imunossupressão grave (Dunham & Graham, 2008; Lutz *et al.*, 2009; Costa & Norsworthy, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012). O subtipo B, C e T não são transmissíveis naturalmente (Dunham & Graham, 2008; Hartmann, 2012). No entanto, podem sofrer mutações/recombinações que podem originar o subtipo A (Costa & Norsworthy, 2011; Hartmann, 2012). A patogenicidade do FeLV B e C em combinação com o FeLV A é maior do que apenas do FeLV A (Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). A infeção pelo FeLV é cosmopolita, sendo a sua seroprevalência variável geograficamente (Lappin, 2006; Hartmann, 2012) (Anexo 1). A prevalência do FeLV é influenciada pela densidade populacional dos gatos podendo existir agregados geográficos (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). Contudo, existe pouca informação fiável sobre a prevalência do FeLV em diferentes países (ABCD, 2012b). A prevalência mundial, em gatos errantes assintomáticos, é de 1 a 8%, e em gatos doentes de 38% (Hartmann, 2012).

O elevado número de gatos errantes no Sul da Europa aumenta a probabilidade de contactos eficazes com gatos suscetíveis e não vacinados, o que pode ter como consequência o registo de incidências mais elevadas (Gleich *et al.*, 2009; Hartmann, 2012). Em Portugal, um estudo realizado em 2010 em gatos errantes na área metropolitana de Lisboa, detetou uma prevalência de 7,1% (Duarte *et al.*, 2010).

Estudos efetuados em gatos das ilhas de Granada, Caraíbas (*West Indies*), Galápagos (*Isabela Island*) demonstraram que estavam livres do FeLV (Levy *et al.*, 2008b; Kelly *et al.*, 2010; Hartmann, 2012).

Existe um consenso geral de que a prevalência de FeLV tem vindo a diminuir consideravelmente nos últimos anos, principalmente em países onde se realizam programas de teste, segregação dos gatos FeLV positivos e vacinação dos gatos FeLV negativos (Dunham & Graham, 2008; Levy *et al.*, 2008a; Gleich *et al.*, 2009; Gruffydd-Jones, 2009; Lutz *et al.*, 2009; Ford, 2011; Hartmann, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013).

### **3.2.1. TRANSMISSÃO**

A forma mais frequente de transmissão do FeLV é por via horizontal, principalmente através da saliva. Porém também ocorre através de secreções nasais, leite, sangue, urina e fezes, podendo ainda ser transmitida por via vertical (Lee *et al.*, 2002; Lappin, 2006; Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; Costa & Norsworthy, 2011; ABCD, 2012b; Bande *et al.*, 2012; Hartmann, 2012; Scherk *et al.*, 2013b; Sykes & Hartmann, 2013). O facto da saliva, das

secreções nasais e da urina se encontrarem contaminadas pelo vírus, faz com que o *grooming*, a partilha de pratos, bebedouros, areias e o contacto social em áreas comuns sejam um meio eficaz de transmissão do vírus (Fromont *et al.*, 1997; Lappin, 2006; Dunham & Graham, 2008; Levy *et al.*, 2008a; Gleich *et al.*, 2009; Costa & Norsworthy, 2011; Kim, 2011; Hartmann, 2012; Scherk *et al.*, 2013b). O FeLV também pode ser transmitido por mordeduras durante lutas territoriais ou no acasalamento (Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; Costa & Norsworthy, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012; Scherk *et al.*, 2013b). Todavia, a concentração do vírus é maior na saliva que no sangue e a excreção de vírus pela urina e fezes é muito baixa (Hartmann, 2012).

A transmissão vertical ocorre com frequência nas gatas virémicas (Hartmann, 2012; Scherk *et al.*, 2013b). Os gatinhos, durante os primeiros 6 meses de vida, são mais suscetíveis ao FeLV que os gatos adultos (Lee *et al.*, 2002; Ford, 2011; Bande *et al.*, 2012) podendo ser infectados pelas mães por via transplacentária e pelos cuidados de higiene da progenitora (Cotter, 1998, citado por Danner, Goltz, Hess & Banko, 2007; Scherk *et al.*, 2013b). Um estudo revelou que os gatos jovens têm 2,5 vezes mais probabilidade de adquirir a infeção por FeLV (Bande *et al.*, 2012). Uma possível explicação para o facto de o FeLV ser mais prevalente em gatos jovens prende-se com o facto de ocorrer uma diminuição progressiva dos recetores celulares necessários para a entrada do FeLV nas células-alvo (Hartmann, 2012). Gleich *et al.* (2009), no seu estudo determinou que a idade média de detecção da infeção por FeLV é 3 anos (Kim, 2011; Sykes & Hartmann, 2013), sendo comum a infeção entre 1 a 6 anos de idade (Lappin, 2006; Kim, 2011). Nas fêmeas grávidas que estejam num período de latência, geralmente não ocorre a transmissão do FeLV durante a gravidez (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). Apesar de esporádica, a transmissão pode ocorrer via colostro/leite, pois o vírus que estava latente na glândula mamária pode desenvolver-se na fase final da gestação (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b).

Inicialmente pensava-se que a prevalência de FeLV não era diferente entre machos e fêmeas (Lee *et al.*, 2002; Hartmann, 2012), porém, estudos efetuados na Alemanha e nos USA, entre outros países, concluíram que os machos apresentam uma maior prevalência da infeção do que as fêmeas (Fromont *et al.*, 1997; Hartmann, 2012).

Os felinos que tenham comportamentos agressivos, apresentam um maior risco de contrair a infeção (Gleich *et al.*, 2009; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013).

Os felinos de raças puras tendem a exibir menor incidência de FeLV devido a existir maiores cuidados, nomeadamente, serem mantidos no interior das habitações e serem testados regularmente para FeLV (Hartmann, 2012).

A pulga *Ctenocephalides felis*, é um potencial vetor do FeLV, tendo sido isolado o vírus na pulga e nas suas fezes (Vobis *et al.*, 2003, citado por Danner *et al.*, 2007; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013).

Os gatos doentes têm uma maior prevalência de FeLV que os gatos sãos (Bande *et al.*, 2012; Hartmann, 2012). Gatos FIV positivos do sexo masculino e que possam ter contacto com outros gatos têm o risco acrescido de infeção por FeLV (Gleich *et al.*, 2009; Sykes & Hartmann, 2013). Bande *et al.* (2012), constataram que os gatos doentes apresentava 5 vezes mais probabilidade de serem positivo ao FeLV e que os gatos agressivos tinham duas vezes mais probabilidade de se infetarem com FeLV do que os não agressivos.

Um estudo realizado por O'Connor *et al.* (1991) revelou que os gatos de vida livre, apresentam uma probabilidade 2,7 vezes superior de adquirir a infeção do que os gatos de apartamento (citado por Lee *et al.*, 2002).

A transmissão do FeLV por via indireta é pouco provável, não sendo necessário cumprir longos períodos de vazio sanitário entre a morte de um gato FeLV positivo e a introdução de um novo gato numa habitação (Hartmann, 2012).

Os principais fatores de risco da infeção por FeLV são a idade, o sexo, o estado de saúde, as condições de vida (Levy *et al.*, 2006; Bande *et al.*, 2012), a densidade populacional e a higiene do local onde o gato vive (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). Assim, a seropositividade é maior em gatos jovens, machos inteiros, doentes e com acesso ao ambiente exterior (Fromont *et al.*, 1997; Lee *et al.*, 2002; Levy *et al.*, 2006; Lutz *et al.*, 2009; Bande *et al.*, 2012; Hartmann, 2012).

### **3.3. PATOGENIA DA INFEÇÃO E IMUNIDADE**

O FeLV infeta vários tecidos tendo como principais alvos os linfócitos, monócitos, células precursoras das células hematopoiéticas na MO, glândulas salivares e epitélio do trato respiratório (Kim, 2011; Hartmann, 2012).

A condição imunológica e a idade do gato aquando da infeção, o subtipo do vírus, a carga viral infetante, a porta de entrada e a presença concomitante de outras doenças, são fatores que influenciam o desenvolvimento e o desfecho da infeção (Dunham & Graham, 2008; Lutz *et al.*, 2009; Costa & Norsworthy, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013).

O primeiro local de replicação viral é na orofaringe onde o FeLV infeta os monócitos e os linfócitos presentes nos linfonodos regionais. Se o sistema imunitário não eliminar o vírus nesta fase inicial o vírus vai infetar a MO e disseminar-se pelo organismo (Lappin, 2006; Dunham & Graham, 2008; Lutz *et al.*, 2009; MacLachlan & Dubovi 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012).

O ciclo de replicação do FeLV é semelhante ao FIV, com uma pequena diferença nos recetores celulares (Dunham & Graham, 2008). No caso do FeLV, este virião infeta as células através da interação com vários recetores, dependendo do subtipo viral (Dunham & Graham, 2008; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). O recetor do FeLV-A tem sido caracterizado como o recetor “*putative thiamine transport protein*” (fTHTR1) (Dunham &



Graham, 2008; Hartmann, 2012). O FeLV-B recorre ao “*sodium-dependant inorganic phosphate transporters*”, Pit1 e Pit2, como recetores celulares (Dunham & Graham, 2008). O FeLV-C utiliza um transportador molecular presente nas células hematopoiéticas, a “*heme-exporting protein*” (FLVCR1) (Dunham & Graham, 2008; Hartmann, 2012). O FeLV-T o recetor “*membranespanning receptor*” (FePit1) e um coreceptor, FeLIX, expresso nos linfócitos T (Dunham & Graham, 2008; Hartmann, 2011).

O resultado desta exposição varia em cada gato. Existe uma discussão acesa em torno da classificação dos diferentes estadios da infeção. Estudos recentes que utilizaram o PCR em tempo real redefiniram as classificações dos estadios da infeção pelo FeLV pesquisando o DNA proviral e o RNA viral (Hartmann, 2012). Desta forma, Hartmann (2012) baseado em Levy *et al.* (2008a) propõe a seguinte classificação:

- 1) Infeção abortiva, que corresponde ao “gato regressor” em que existe uma eliminação completa da infeção;
- 2) Infeção regressiva, que corresponde à virémia transitória seguida de infeção latente;
- 3) Infeção progressiva, que corresponde à virémia persistente;
- 4) Infeção focal ou atípica.

Os gatos com um sistema imunitário eficiente conseguem parar a replicação viral porque produzem uma resposta imunológica humoral e celular eficaz. Não se tornam virémicos e eliminam o vírus – infeção abortiva (Costa & Norsworthy, 2011; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). Este estadio é raramente reproduzido quando o FeLV é inoculado experimentalmente (Levy *et al.*, 2008a; Hartmann, 2012). Caracteriza-se por resultados negativos aos testes de diagnóstico virológicos e à pesquisa no sangue do antígeno p27, de RNA e de DNA viral sendo estes animais designados por “gato regressor” (Levy *et al.*, 2008a; Costa & Norsworthy, 2011; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). Apresentam níveis elevados de anticorpos neutralizantes no sangue (Costa & Norsworthy, 2011; Hartmann, 2012). Não apresentam propagação viral sistémica e a infeção passa geralmente despercebida (Hartmann, 2012). A infeção abortiva é provavelmente causada por exposição a uma dose viral baixa em que a produção de anticorpos é o único indicador de infeção (Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). Contudo, alguns estudos que recorreram a métodos de PCR muito sensíveis revelaram que em muitos “gatos regressores”, o vírus foi recuperado mais tarde, indicando que nenhum ou muito poucos gatos podem eliminar totalmente o FeLV (Dunham & Graham, 2008; Hartmann, 2012). Esta condição explica a persistência dos anticorpos neutralizantes durante muitos anos ou mesmo para o resto da vida nestes gatos (Hartmann, 2012). Se assim for, o risco de excreção do vírus ou do desenvolvimento de doença associada ao FeLV é extremamente baixo, pois estes gatos têm a mesma esperança de vida que gatos que não expostos ao FeLV (Hartmann, 2012).

Se a resposta imunológica não for adequada, a infeção instala-se e o antígeno p27 é detetado no plasma após a primeira virémia, um a três dias pós-infeção (Costa &

Norsworthy, 2011). Após esta virémia inicial, o vírus dissemina-se por diferentes órgãos incluindo o timo, os linfonodos e o baço (Costa & Norsworthy, 2011).

Estudos recentes sugerem que após a exposição ao vírus, a maior parte dos gatos permanece infectado para toda a vida, mas alguns animais podem reverter para um estado avirémico - infecção regressiva - em que não há antigénio viral no sangue mas o provírus pode ser detetado por PCR (Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; Hartmann, 2012). Este tipo de infecção ocorre em 30 a 40% dos gatos e é acompanhada por uma resposta imunitária eficiente em que a replicação viral e a virémia são controladas antes ou durante a infecção da MO (Dunham & Graham, 2008; Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). Após esta infecção inicial, o FeLV replica no interior das células mononucleares (linfócitos e monócitos) (Hartmann, 2012). No primeiro episódio de virémia, a proteína p27 do FeLV é detetada no plasma podendo os animais disseminar o vírus neste período. Nos gatos com infecção regressiva a virémia que se estabelece um a três dias após a infecção é controlada dentro de 3 a 16 semanas (virémia de transição) (Hartmann, 2012). Durante este período os gatos excretam o vírus sendo infeciosos (Costa & Norsworthy, 2011; Hartmann, 2012). Muitos gatos são capazes de controlar a virémia antes da infecção da MO enquanto noutros animais a virémia pode persistir por mais de 3 semanas. Se a virémia não for controlada após estas 3 semanas as células hematopoiéticas precursoras na MO são afetadas e são produzidos granulócitos e plaquetas sanguíneas infectadas que irão circular por todo o organismo (Costa & Norsworthy, 2011; Hartmann, 2012). Uma vez estabelecida a infecção nas células da MO, os gatos não poderão eliminar o vírus do seu organismo porque a informação genética para a replicação do vírus (DNA proviral) está contida na linhagem germinativa das células da MO (Costa & Norsworthy, 2011; Hartmann, 2012). Este estadio era anteriormente denominado por infecção latente no entanto agora faz parte do estadio da infecção regressiva. Embora o DNA proviral permaneça no genoma da célula hospedeira, nenhum vírus é produzido nem eliminado e os gatos com infecção regressiva apresentam resultados negativos para pesquisa de antigénio nos testes serológicos de rotina (ELISA e IF) (Costa & Norsworthy, 2011; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). A infecção regressiva só pode ser diagnosticada em cultura de células da MO ou por PCR para detetar o provírus (Hartmann, 2012). A infecção regressiva pode persistir por toda a vida e pode ser reativada em casos de imunossupressão (administração de glucocorticoides ou de imunossupressores, etc.) ou stress (gravidez ou lactação, etc.), o que é pouco frequente, por a reativação se tornar cada vez mais difícil com o decorrer do tempo (Lutz *et al.*, 2009; Costa & Norsworthy, 2011; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). De facto, a probabilidade de reativação após dois anos é muito baixa uma vez que o vírus utiliza células em divisão rápida para se replicar podendo ocorrer perda de informação genética para a produção de partículas virais (Hartmann, 2012). Apenas 8% dos gatos infectados permanecem com infecção latente 3 anos pós-infecção (Costa & Norsworthy, 2011).

Nos períodos de reativação da infecção ocorre virémia que pode ser detetada pelos testes de pesquisa de antígeno (Costa & Norsworthy, 2011), sinais clínicos e excreção viral (Lappin, 2006; Kim, 2011). Os gatos com infecção latente não infetam outros animais mas as gatas podem transmitir o vírus às crias durante a gestação, no momento do parto ou através do colostro/leite materno (Lappin, 2006).

A infecção progressiva é caracterizada por uma insuficiente resposta imunitária associada a uma extensa replicação viral que ocorre primeiro no tecido linfóide e depois na MO, tornando-se sistêmica a partir daí (Levy *et al.*, 2008a; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). Na MO as células dividem-se rapidamente produzindo grandes quantidades de células infetadas culminando no desenvolvimento de virémia poucas semanas após a infecção (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). Os leucócitos e as plaquetas infetadas disseminam o vírus na corrente sanguínea e linfática promovendo a infecção de estruturas epiteliais, incluindo as glândulas salivares e lacrimais, o timo e o baço (Lappin, 2006; Dunham & Graham, 2008; Costa & Norsworthy, 2011) e o epitélio intestinal, estando o vírus presente em grandes quantidades na saliva e nas fezes (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). Neste estágio os gatos podem ficar permanentemente virêmicos e infecciosos para outros gatos ao longo de toda a vida (Costa & Norsworthy, 2011; Hartmann, 2012). Estes animais possuem níveis baixos de anticorpos neutralizantes e o vírus replica-se persistentemente na MO, baço, linfonodos e glândulas salivares. Tendem a desenvolver doenças associadas à infecção por FeLV e muitos deles morrem num período de 3 anos (Lappin, 2006; Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; Costa & Norsworthy, 2011; Kim, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). Os gatos que apresentam um maior risco de infecção progressiva são os jovens e os imunossuprimidos (Hartmann, 2012).

As infecções, regressiva e progressiva, podem ser distinguidas através da realização de testes de forma repetida para pesquisa de antígeno no sangue periférico (Levy *et al.*, 2008a; Hartmann, 2012). A maior parte dos gatos exibem inicialmente um teste positivo, 2 a 3 semanas após a exposição ao vírus em ambos os tipos de infecção. No caso da infecção regressiva, este resultado torna-se negativo passado 2 a 8 semanas (Hartmann, 2012) ou em casos raros, até 4 meses mais tarde (Levy *et al.*, 2008a; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). Ambas as infecções revelam persistência do DNA proviral no sangue (Hartmann, 2012).

Em estudos experimentais recentes, cerca de 10% dos gatos manifestaram infecção focal ou atípica (Hartmann, 2012). Em condições naturais, esta infecção é raramente observada (< 5%) consistindo numa replicação persistente e atípica em tecidos como as glândulas mamárias, baço, linfonodos, intestino delgado, bexiga ou olhos (Levy *et al.*, 2008a; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). Esta infecção caracteriza-se pela produção intermitente do antígeno p27 que origina alternadamente resultados positivos ou negativos à pesquisa de antígeno (Hartmann, 2012). Estes casos são diagnosticados através da

pesquisa de DNA proviral em células dos tecidos infetados pelo vírus mas não no sangue ou na MO (Sykes & Hartmann, 2013).

Os mecanismos de imunossupressão do FeLV ainda não estão completamente esclarecidos, todavia, pensa-se que a p15e inibe as funções das células T e B, inibindo a resposta citolítica dos linfócitos, alterando a morfologia e a distribuição dos monócitos, estando associada à alteração da produção e da capacidade de resposta das citocinas (Sykes & Hartmann, 2013).

Os gatos podem desenvolver linfopênia, atrofia do timo e diminuição do número de linfócitos nos linfonodos (Sykes & Hartmann, 2013). O mau funcionamento das células T CD4+ contribui para a diminuição da resposta imunológica humoral e celular em gatos infetados como também pode prejudicar a resposta à vacinação (Sykes & Hartmann, 2013).

Os recém-nascidos desenvolvem após a infecção, atrofia do timo resultando numa imunossupressão severa que conduz à morte (Hartmann, 2011). Com o aumento da idade os gatos vão adquirindo uma resistência progressiva à infecção pelo FeLV (Hartmann, 2011). Quando a infecção atinge gatos mais velhos estes tendem a desenvolver infecções abortivas ou regressivas. Se desenvolverem infecção progressiva, estes animais tendem a apresentar sinais clínicos mais subtis e um período mais prolongado de saúde aparente (Hartmann, 2011).

### **3.4. APRESENTAÇÃO CLÍNICA**

A infecção por FeLV pode causar sinais clínicos variáveis e múltiplos (Hartmann, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012). A apresentação clínica de cada felino infetado pelo FeLV é determinada pela combinação de fatores virais e do hospedeiro (Hartmann, 2011; Hartmann, 2012). O subtipo viral vai influenciar os diferentes quadros clínicos, estando o FeLV-B principalmente associado a tumores enquanto o FeLV-C está associado à anemia não-regenerativa (Costa & Norsworthy, 2011; Hartmann, 2012). A idade do felino no momento da infecção é o fator do hospedeiro que mais determina a expressão clínica (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012).

A apresentação de sinais clínicos de infecção por FeLV ocorre geralmente em animais virémicos. Os animais com infecção regressiva nunca desenvolvem sinais clínicos (Sykes & Hartmann, 2013).

Logo após à infecção, alguns gatos podem apresentar febre, letargia e/ou linfadenomegália (Sykes & Hartmann, 2013).

As consequências mais reportadas nos casos de virémia persistente (infecção progressiva) são anemia, imunossupressão e linfoma (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012). Pode ainda ocorrer outros distúrbios hematológicos, doenças imunomediadas e outras síndromes como alterações reprodutivas, síndrome do gatinho enfraquecido (*fading kitten syndrome*) e alterações neurológicas (Hartmann, 2011; Little *et al.*, 2011; Hartmann, 2012).

Ao exame físico o animal com infecção progressiva pode apresentar letargia, anorexia, febre, mucosas pálidas, petéquias, desidratação, linfadenomegália, perda de condição corporal, gengivo-estomatite, abscessos subcutâneos e sinais de doença das vias respiratórias superiores (Costa & Norsworthy, 2011; Sykes & Hartmann, 2013). Segundo Costa & Norsworthy (2011) também pode apresentar efusão pleural, alterações oculares e dermatológicas, e à palpação, massas intra-abdominais ou organomegália.

Tem sido investigada uma síndrome de enterite associada ao FeLV em gatos com infecção progressiva dominada por sinais gastrointestinais incluindo diarreia hemorrágica, vômito, ulceração oral, gengivite, anorexia, perda de peso, desidratação e anemia (Dunham & Graham, 2008; Hartmann, 2011; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). Nesta síndrome há destruição das criptas do epitélio intestinal (Dunham & Graham, 2008; Hartmann, 2011; Hartmann, 2012), assemelhando-se histologicamente à panleucopénia (Lappin, 2006; Hartmann, 2012). Ainda não foi esclarecido se esta síndrome é causada só pelo FeLV, ou se pela coinfeção com o vírus da panleucopénia felina (Hartmann, 2011; Hartmann, 2012). Também podem ocorrer infecções concomitantes com outros vírus entéricos como o coronavírus (Sykes & Hartmann, 2013).

As doenças secundárias à imunossupressão agravam a taxa de mortalidade nos gatos infectados pelo FeLV (Hartmann, 2012). A imunossupressão que ocorre no FeLV é mais complexa e grave do que a que ocorre no FIV, desconhecendo-se ainda muitos dos mecanismos exatos pelos quais o vírus afeta o sistema imunitário (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012). Estão relatadas várias alterações incluindo atrofia do timo, linfopénia, neutropénia, anomalias da função dos neutrófilos, perda de células CD4+ e perda substancial das células CD8+ (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012). Assim, em resultado da imunossupressão que o FeLV induz, é comum o surgimento de infecções secundárias por agentes bacterianos, fúngicos e infecciosos (Lutz *et al.*, 2009; Kim, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). Como exemplos temos a PIF, coccidiose, micoplasmose, salmonelose, criptococose felina, toxoplasmose e dermatofitoses (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013).

A infecção por FeLV também pode predispor a doenças crónicas como a estomatite e a rinite crónica (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Sykes & Hartmann, 2013) e infecções do trato urinário superior e inferior (Sykes & Hartmann, 2013).

As doenças inflamatórias e degenerativas do fígado têm sido descritas em gatos infectados por FeLV (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012). A icterícia pode ser pré-hepática por destruição imunomediada dos eritrócitos pelo FeLV ou por infecção secundária por *H. felis* (*Mycoplasma haemofelis* e *Mycoplasma haemominutum*); hepática como consequência de linfoma hepático, lipidose ou necrose focal do fígado; e pós-hepática, pela presença de linfoma alimentar (Lappin, 2006).

Como o FeLV atravessa a placenta, tem sido descrita a ocorrência de alterações reprodutivas como infertilidade, reabsorção fetal, aborto, morte embrionária, fetal ou neonatal (Lappin, 2006; Dunham & Graham, 2008; Lutz *et al.*, 2009; Costa & Norsworthy, 2011; Hartmann, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012).

A infertilidade pode ser causada pela reabsorção dos fetos. Os abortos ocorrem geralmente no final da gestação, com a expulsão de fetos normais. Os gatos que nascem infetados tendem a morrer 2 semanas após o nascimento (Lappin, 2006; Lutz *et al.*, 2009; Hartmann, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012; Scherk *et al.*, 2013b), vítimas da síndrome do gatinho enfraquecido (*fading kitten syndrome*) apresentando desidratação, hipotermia, atrofia do timo e morte precoce (Lappin, 2006; Lutz *et al.*, 2009; Hartmann, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012).

O FeLV é responsável por diferentes neoplasias hematopoiéticas, 90% são linfomas, e leucemia (Lutz *et al.*, 2009; Hartmann, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). O mecanismo pelo qual o FeLV causa neoplasia pode ser explicado pela inserção do genoma viral no genoma celular perto de proto-oncogenes, como o *myc*, resultando na ativação e sobreexpressão deste oncogene celular (Hartmann, 2011; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013).

Na necrópsia, aproximadamente 23% dos gatos infetados pelo FeLV tem neoplasias, dos quais 96% são linfossarcomas/leucemia (Lappin, 2006; Kim, 2011).

Os linfomas mais comuns associados ao FeLV são o linfoma mediastinal (timo), alimentar (tumores associados a órgãos do aparelho digestivo), multicêntrico (afeta os linfonodos) e atípico ou extranodal (tumores solitários nos rins, oculares, SNC ou pele) (Lappin, 2006; Dunham & Graham, 2008; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012).

Os linfomas associados à infecção por FeLV tendem a ter origem nos linfócitos T e em alguns casos o linfoma pode estar disseminado por múltiplos órgãos (Dunham & Graham, 2008; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). Quando o fígado, baço, MO, sangue e/ou órgãos não-límbicos são afetados, o prognóstico é mau (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b).

O linfoma alimentar envolve muitas vezes o intestino delgado, linfonodos mesentéricos, rins e fígado de gatos velhos (Lappin, 2006). O linfoma renal pode afetar um ou ambos os rins resultando em renomegália e contornos renais irregulares ao exame físico (Lappin, 2006). Cerca de 75-90% dos linfomas no timo são detetados em animais jovens com FeLV. Por sua vez, 25 a 30% dos linfomas alimentares são diagnosticados em gatos velhos (Hartmann, 2006; Dunham & Graham, 2008). No entanto, 90% dos linfomas observados em animais infetados pelo FeLV com aproximadamente 4 anos de idade são linfomas multicêntricos (Dunham & Graham, 2008).

No entanto, tem-se notado uma diminuição da frequência de linfomas em gatos FeLV positivos. Uma das principais razões para esta diminuição, parece ser a redução da

incidência de FeLV nas populações de gatos em resultado dos programas de teste e vacinação (Dunham & Graham, 2008; Hartmann, 2011; Hartmann, 2012).

A leucemia envolve frequentemente células linfóides, mas também pode envolver outras linhagens de células hematopoiéticas que são suscetíveis à transformação pelo FeLV, resultando em doença mieloproliferativa ou síndrome mielodisplásica (Hartmann, 2012). Os sinais clínicos de leucemia aguda são devido à perda de células hematopoiéticas normais resultando em letargia pela anemia, sinais de sépsis com neutropénia e trombocitopénia (Hartmann, 2012). As leucemias crónicas são raras nos gatos e raramente estão associadas ao FeLV (Hartmann, 2012).

Gatos FeLV positivos podem apresentar fibrossarcoma devido à recombinação do FeLV-A com oncogenes celulares (c-fes, c-fms ou c-CA) que vai originar o vírus do sarcoma felino (FeSV) (Lappin, 2006; Lutz *et al.*, 2009; Hartmann, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). É frequente a ocorrência de fibrossarcomas múltiplos em gatos jovens (Lappin, 2006; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012).

Com a diminuição da prevalência do FeLV, o vírus do sarcoma felino também se tornou menos frequente (Hartmann, 2012). O fibrossarcoma causado pelas várias estirpes do vírus do sarcoma felino tende a crescer rapidamente e a apresentar múltiplos nódulos cutâneos ou subcutâneos, metástases nos pulmões e noutros locais (Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). Normalmente os fibrossarcomas solitários aparecem em gatos idosos e não são causados pelo FeSV (Hartmann, 2012).

Também têm sido relatadas alterações neurológicas associadas ao FeLV (Hartmann, 2012). Incluem anisocoria, midríase, cegueira central, síndrome de Horner, vocalização anormal, hiperestesia, ataxia, fraqueza, paresia progressiva para paralisia, tetraparésia, paraparésia, mudanças de comportamento e incontinência urinária (Lappin, 2006; Lutz *et al.*, 2009; Hartmann, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). Estes sintomas são causados por linfoma ou por infiltração de linfócitos no cérebro ou na espinhal medula levando à sua compressão (Lappin, 2006; Hartmann, 2011; Hartmann, 2012). As glicoproteínas presentes no invólucro do retrovírus são capazes de aumentar o cálcio livre intracelular levando à morte neuronal como sucede no HIV (Hartmann, 2011; Hartmann, 2012). As glicoproteínas presentes no FeLV-C são mais neurotóxicas que as do FeLV-A (Hartmann, 2011; Hartmann, 2012).

Várias doenças imunomediadas são causadas por uma resposta hiperativa ou descontrolada pelo vírus (Hartmann, 2012). A perda das células T supressoras e a formação de complexos antígeno-anticorpo contribuem para o aparecimento de doenças imunomediadas (Hartmann, 2012). Estas incluem a anemia hemolítica autoimune, glomerulonefrites, uveítes com deposição de imunocomplexos na íris e no corpo ciliar, e poliartrites (Lappin, 2006; Hartmann, 2011; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013).

As alterações hematológicas associadas ao FeLV são anemia, neutropenia, panleucopenia, trombocitopenia e pancitopenia (Hartmann, 2011; Hartmann, 2012).

Aproximadamente, 90% dos gatos infectados pelo FeLV desenvolvem anemia não-regenerativa e raramente regenerativa (10%) (Hartmann, 2011; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). As anemias regenerativas podem ser devido a hemólise relacionadas com infecções secundárias, por exemplo, por *Mycoplasma haemofelis*, destruição imunomediada ou hemorragia causada por trombocitopenia (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). Estes animais podem apresentar letargia, anorexia, depressão, mucosas pálidas, icterícia, desidratação e/ou esplenomegalia (Hartmann, 2012). As anemias não-regenerativas podem ser causadas por mecanismos inflamatórios crônicos, destruição, supressão ou proliferação da MO, mielossupressão (ou pancitopenia ou aplasia pura de hemácias) e doença mieloproliferativa (ABCD, 2012b), levando assim à diminuição das células precursoras dos eritrócitos (Sykes & Hartmann, 2013). O FeLV-C tem um papel singular, pois uma proteína que transporta o grupo heme liga-se ao seu recetor, interferindo no seu transporte, resultando em anemia não-regenerativa severa (Dunham & Graham, 2008; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b).

A anemia não-regenerativa isolada ou combinada com a diminuição da contagem dos linfócitos, neutrófilos e plaquetas é comum em gatos com FeLV (Lappin, 2006).

Observam-se citopenias, em particular, trombocitopenia e neutropenia, provavelmente causadas por mecanismos imunomediados e mielossupressão induzidos pelo vírus (Lappin, 2006; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012).

A trombocitopenia pode ocorrer devido a uma diminuição da produção de plaquetas secundária à supressão da MO induzida pelo FeLV ou devido a infiltração pela leucemia (Hartmann, 2011; Hartmann, 2012). Como o FeLV se replica nos megacariócitos, estas células vão originar plaquetas com proteínas virais, e conseqüentemente, alteração da sua função e diminuição do seu tempo de vida, contribuindo deste modo assim para a trombocitopenia (Hartmann, 2011; Hartmann, 2012).

É comum os gatos com infecção progressiva pelo FeLV apresentarem neutropenia, linfopenia e respetiva função prejudicadas, nomeadamente diminuição da função quimiotática e fagocitária (Hartmann, 2011; Hartmann, 2012). Os gatos infectados podem apresentar atrofia do timo e diminuição das zonas paracorticais dos linfonodos (Hartmann, 2012). É comum ocorrer neutropenia isolada ou em conjunto com outras citopenias (Hartmann, 2011; Hartmann, 2012). Em alguns casos de neutropenia é observado hipoplasia mieloide, sugerindo a existência de infecção citopática dos precursores dos neutrófilos pelo FeLV (Hartmann, 2012). A linfopenia resulta da replicação viral que ocorre nos linfócitos e é caracterizada pela perda de células T CD4+ e CD8+ (Hartmann, 2011; Hartmann, 2012).

As alterações bioquímicas mais frequentes são azotemia, hiperbilirrubinemia, bilirrubinúria e/ou aumento da atividade das enzimas hepáticas (Lappin, 2006; Costa & Norsworthy,



2011). A proteinúria ocorre em alguns gatos FeLV positivos com glomerulonefrite (Lappin, 2006).

### **3.5. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL**

O diagnóstico de gatos infectados é a base da prevenção da transmissão do FeLV a gatos suscetíveis e da avaliação da eficácia dos calendários de vacinação nesta espécie (Hartmann *et al.*, 2007; Hartmann, 2012).

Um diagnóstico preciso é crucial tanto para os gatos infectados como para os sãos porque um resultado falso-negativo pode levar à exposição inadvertida e à transmissão do vírus a gatos sãos, e um resultado falso-positivo pode originar mudanças inadequadas no estilo de vida do gato ou no limite à sua eutanásia. Para mitigar falhas no diagnóstico laboratorial, após a realização de um teste inicial - independentemente do resultado obtido - para confirmar o resultado, deve fazer-se um segundo teste com melhor especificidade e sensibilidade 60 dias depois (Levy *et al.*, 2008a; Hartmann, 2012).

#### **3.5.1. DETEÇÃO DE ANTIGÉNIO**

Os testes de deteção do antígeno mais usados hoje em dia na prática clínica baseiam-se na deteção da proteína p27, presente em abundância no citoplasma das células infectadas (neutrófilos e plaquetas), no sangue total, plasma, soro, saliva ou lágrimas de gatos infectados (Lappin, 2006; Hartmann, 2012). Estes testes permitem que os animais possam ser testados em qualquer idade (Dunham & Graham, 2008; Levy *et al.*, 2008a; Hartmann, 2012) e antes da administração de vacinas (Little *et al.*, 2011; Hartmann, 2012).

Os métodos disponíveis para a deteção do antígeno são o ELISA, a imunocromatografia, a IF direta, a PCR e o isolamento viral (Hartmann, 2012).

Tendo em conta que nenhum dos métodos citados são 100% eficazes, os resultados obtidos deverão ser cuidadosamente interpretados. Com a prevalência da infeção pelo FeLV a diminuir, os resultados falsos-positivos tendem a aumentar (Dunham & Graham, 2008; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). Um resultado serológico positivo num gato saudável e sem histórico de contacto com outros gatos deve ser considerado duvidoso e confirmado, com um teste completar, de preferência pela PCR (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). Em contrapartida, um teste positivo num gato com sinais clínicos compatíveis com a infeção pelo FeLV é mais confiável (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). Quando se trabalha numa população com baixa prevalência, um resultado negativo torna-se mais fiável, mesmo quando a sensibilidade e a especificidade do método de diagnóstico utilizado não sejam as mais elevadas (Dunham & Graham, 2008).

Fatores como a fase da infeção, a variabilidade da resposta imunitária do hospedeiro ou questões técnicas do teste podem originar resultados divergentes entre diferentes testes (Levy *et al.*, 2008a; Hartmann, 2012).

Quando se obtém um resultado negativo ao isolamento viral, ELISA, imunocromatografia, IF e PCR por RNA mas positivo à PCR por DNA viral, esses gatos estão infectados pelo FeLV de forma latente, devendo ser considerados uma potencial fonte de infecção (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b).

Os testes de eleição para utilizar numa primeira abordagem são o ELISA ou a imunocromatografia (Sykes & Hartmann, 2013).

#### **3.5.1.1. ELISA**

É um método de diagnóstico rápido e o mais utilizado atualmente na prática clínica (Gruffydd-Jones, 2009). Este teste baseia-se na deteção da proteína p27 do FeLV exógeno presente no sangue, plasma ou soro (Hartmann *et al.*, 2007; Gruffydd-Jones, 2009; ABCD, 2012b) e como tal, os Ac maternos e vacinais não vão interferir no resultado (Ford, 2011).

A p27 pode ser detetada logo uma semana após o contacto com o agente, na saliva e nas lágrimas, mas os resultados mais fiáveis obtêm-se de amostras de soro ou de plasma sanguíneo (Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; Hartmann, 2012).

Como o vírus é detetado logo na primeira semana de infecção, ainda antes de ocorrer a infecção na MO, um resultado positivo pode indicar um estado de virémia de transição (infecção regressiva) ou um estado de virémia persistente (infecção progressiva) (Lappin, 2006; Levy *et al.*, 2008a; Hartmann, 2012). Por isso, estes animais devem ser novamente testados 4 a 6 meses depois para confirmar o resultado positivo (Sykes & Hartmann, 2013).

O ELISA tem uma sensibilidade de 98,6% e uma especificidade de 98,2% (Levy *et al.*, 2006). Dada a elevada especificidade do teste, um resultado positivo num gato doente tem grande fiabilidade (Ford, 2011). Porém, a presença de uma baixa concentração de p27 pode culminar num resultado um falso-negativo (Levy *et al.*, 2006).

Embora a técnica possa ser feita com sangue total, soro ou plasma, demonstrou-se em alguns estudos que ocorrem mais falsos-positivos quando se utilizava sangue total e em especial, quando as amostras estavam hemolisadas. Assim, é aconselhado realizar o ELISA com plasma ou soro (Gruffydd-Jones, 2009; Hartmann, 2012). Existem outros erros que podem originar resultados distorcidos, como utilizar o *kit* a uma temperatura inapropriada e interpretar o teste no tempo errado (Gruffydd-Jones, 2009).

As amostras com resultados positivos ao ELISA podem ser confirmadas pela IF direta (Levy *et al.*, 2006). Quando o resultado é positivo ao ELISA e negativo à IF direta, indica uma fase inicial da virémia (Sykes & Hartmann, 2013).

#### **3.5.1.2. Imunocromatografia**

Baseia-se no mesmo princípio do ELISA (Lutz *et al.*, 2009; Hartmann, 2012), tem valores de sensibilidade e de especificidade semelhantes ao ELISA (Lutz *et al.*, 2009) e consegue detetar baixos níveis de p27 no sangue ou soro (Hartmann, 2012).

Estes testes são muito usados durante as consultas como testes rápidos de diagnóstico (Hartmann, 2012). Ao contrário do ELISA, o uso de soro, plasma ou sangue total não interfere no resultado, assim, um resultado positivo significa que o gato está virémico (Hartmann, 2012).

#### **3.5.1.3. Imunofluorescência direta**

Foi o primeiro método que permitiu a detecção do FeLV nos gatos virémicos em 1973 (ABCD, 2012b; Hartmann, 2012).

Este teste baseia-se na detecção da p27 em esfregaços de sangue (Dunham & Graham, 2008; Gruffydd-Jones, 2009; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012) ou de MO (Sykes & Hartmann, 2013). Para uma interpretação fiável dos resultados é necessário um técnico experiente (Gruffydd-Jones, 2009; Hartmann, 2012). Os resultados dos testes de IF só dão positivos quando a MO está infetada (Lappin, 2006; Hartmann, 2012). Resultados positivos refletem geralmente uma virémia persistente, indicando assim infeção progressiva (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012) resultante da infeção da MO (Dunham & Graham, 2008; Levy *et al.*, 2008a).

A especificidade da IF direta é de aproximadamente 95% (Lappin, 2006) e apresenta uma sensibilidade significativamente inferior à do isolamento viral (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b).

Os resultados falso-negativos podem ocorrer quando o gato apresenta leucopénia ou trombocitopénia ou simplesmente uma inadequada quantidade de células infetadas (Lappin, 2006; Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Sykes & Hartmann, 2013).

Os resultados falso-positivos são devidos à ligação dos eosinófilos ao composto fluorescente usado no teste (Lappin, 2006; Lutz *et al.*, 2009; Sykes & Hartmann, 2013) ou a esfregaços demasiado espessos (Lappin, 2006; Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009).

Quando ocorre um resultado positivo na IF e negativo no ELISA é possível que tenham ocorrido artefactos relacionados com a técnica, sendo muito mais provável um falso-positivo na IF do que um falso-negativo no ELISA (Lappin, 2006; Hartmann, 2012).

#### **3.5.1.4. PCR**

Este método quantitativo é utilizado para detetar ácidos nucleicos do FeLV, o provírus (DNA viral) ou o RNA viral (Gruffydd-Jones, 2009; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). Esta técnica pode ser realizada a partir de amostras da MO, tecidos ou sangue de gatos infetados (Levy *et al.*, 2008a; Hartmann, 2012). É um método muito sensível e é necessário que seja realizado em laboratório por técnicos especializados (Levy *et al.*, 2008a; Hartmann, 2012). A PCR é muito utilizada para confirmar estados de infeção regressiva, uma vez que neste estadio não há replicação do vírus, o que tem como consequência resultados negativos no ELISA e na imunocromatografia

(Hartmann, 2012). A taxa de detecção é maior em amostras da MO, aspirados de linfonodos ou de neoplasias do que no sangue de gatos infectados regressivamente (Hartmann, 2012). Quando o resultado é positivo ao PCR proviral e negativo ao ELISA podemos estar perante uma infecção regressiva (Levy *et al.*, 2008a; Sykes & Hartmann, 2013). Os níveis de DNA viral tendem a ser inferiores em gatos com infecção regressiva do que em gatos com infecção progressiva (Sykes & Hartmann, 2013).

A PCR que deteta o RNA viral é extremamente sensível podendo detetar o vírus em amostras de sangue, soro, plasma, saliva ou fezes (Gruffyd-Jones, 2009; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). A presença de RNA viral é indicativo de virémia (Gruffyd-Jones, 2009). Esta técnica permite detetar e quantificar o vírus livre na ausência de células (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). Altas concentrações de RNA viral no sangue ou na saliva estão associadas à infecção progressiva (produção viral), enquanto baixas concentrações estão associadas à infecção regressiva (não existe produção viral) (Sykes & Hartmann, 2013).

Podem ocorrer resultados falso-negativos devido à elevada taxa de mutação dos retrovírus enquanto os falsos-positivos podem resultar da contaminação da amostra ou de erros técnicos (Sykes & Hartmann, 2013).

Como o vírus presente na vacina contra o FeLV é inativado ou recombinante, não se replica nem se integra nas células hospedeiras, por isso, a vacinação não conduz a resultados falso-positivos na PCR (Sykes & Hartmann, 2013).

#### **3.5.1.5. Isolamento Viral**

É o teste considerado de “*gold standard*” (Hartmann *et al.*, 2007; Dunham & Graham, 2008; Levy *et al.*, 2008a; Gruffydd-Jones, 2009). É um método extremamente sensível, capaz de detetar a infecção numa fase inicial (Gruffydd-Jones, 2009). Resultados positivos refletem virémia ativa (Dunham & Graham, 2008). No entanto, é um teste moroso e depende para a sua execução de técnicos especializados, não sendo utilizado por rotina (Levy *et al.*, 2008a; Gruffydd-Jones, 2009; Lutz *et al.*, 2009; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013).

#### **3.5.2. DETECÇÃO DE ANTICORPOS**

Os resultados serológicos são de difícil interpretação porque muitos gatos desenvolvem Ac contra o enFeLV, pelo que estes testes têm pouco valor clínico (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). Por outro lado, não permitem distinguir Ac vacinais de Ac da infecção natural (Hartmann, 2012).

### **3.6. TRATAMENTO**

Os cuidados clínicos prestados a gatos infectados consistem em grande parte em terapêuticas sintomáticas direccionadas para controlar infeções secundárias causadas por agentes oportunistas (Duarte *et al.*, 2012; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013).

Assim, o diagnóstico precoce de eventuais infecções secundárias é muito importante para que se institua uma terapêutica eficaz (ABCD, 2012b; Duarte *et al.*, 2012).

Os gatos FeLV positivos devem ser confinados num espaço isolado, não só para evitar a disseminação do vírus a outros gatos mas também para se protegerem de infecções por outros agentes infecciosos e parasitários pois estão imunossuprimidos (Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013). Devem ser alimentados com uma dieta comercial de qualidade sendo este fator essencial para manterem um estado de saúde (Levy *et al.*, 2008a; Costa & Norsworthy, 2011; Hartmann, 2012). Devem realizar consultas de rotina, pelo menos a cada 6 meses, onde são submetidos a um exame físico minucioso, monitorização do peso e realização de testes laboratoriais (hematologia, bioquímicas e urianálise) (Lutz *et al.*, 2009; Costa & Norsworthy, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012).

Sempre que a avaliação do risco de exposição a agentes infecciosos o justifique, o veterinário assistente de um gato FeLV positivo, pode optar por implementar um calendário de vacinação recorrendo à administração de uma vacina polivalente inativada contra o FPV, FHV e FCV, a cada 6 meses, pois a resposta imunitária nestes animais é menos eficaz e duradoura (Costa & Norsworthy, 2011; Hartmann, 2012).

Em ambiente hospitalar, devido à imunossupressão, estes animais devem ser internados em jaulas individuais em unidades de isolamento de doenças infecciosas.

### **3.6.1. TRATAMENTO DE SUPORTE**

Consiste num tratamento sintomático que pode incluir períodos de fluídoterapia e controlo de infeções concomitantes.

Gatos FeLV positivos com infeções oportunistas respondem bem aos antibióticos embora por vezes seja necessário implementar uma terapêutica mais longa e mais agressiva (Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Sykes & Hartmann, 2013). Quando na presença de infeções por hemoplasmas (e.g. *Mycoplasma haemofelis*) ou infeções bacterianas secundárias, os gatos FeLV positivos tendem a responder bem à doxicilina (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Sykes & Hartmann, 2013).

A administração de corticosteroides, outros fármacos supressores da MO ou imunossupressores deve ser evitada, exceto se forem indicados no tratamento de neoplasias ou de doenças imunomediadas associadas ao FeLV (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012).

No caso da gengivo-estomatite crónica, alguns autores advogam que é preferível a extração dentária completa a uma terapia de longo prazo com AIE's (Levy *et al.*, 2008a).

Pode ser necessário recorrer a transfusões de sangue em gatos que apresentem anemia não-regenerativa grave (Lappin, 2006; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Sykes & Hartmann, 2013). Embora estes gatos possam apresentar um nível plasmático de EPO elevado, está

recomendada a administração de rHu-EPO (Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013) ou de darbepoetina (Sykes & Hartmann, 2013).

Para contrariar a leucopénia pode administrar-se rHuG-CSF (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b).

Nos casos dos animais com linfomas, o tratamento consiste na administração de fármacos quimioterápicos (Lappin, 2006; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). A resposta à quimioterapia é variável (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b), no entanto, observou-se que gatos com linfoma tratados com ciclofosfamida, vincristina e prednisolona, conhecido como protocolo COP, apresentaram taxas de remissão até 75% em 150 dias (Hartmann, 2012).

### **3.6.2. TRATAMENTO ANTIVIRAL**

A maioria dos fármacos utilizados no tratamento antiviral do FeLV são os utilizados no tratamento do HIV no Homem (Hartmann, 2012).

A eficácia dos fármacos antivirais é limitada e muitas vezes provocam efeitos secundários (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). Poucos estudos demonstraram algum efeito em gatos infetados pelo FeLV (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b).

A exceção é o AZT que bloqueia a RT retroviral e inibe eficazmente a replicação do FeLV tanto *in vitro* como *in vivo* (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). Foi demonstrado que este composto reduz a carga viral no plasma, melhora o estado clínico e imunológico, aumentando a qualidade de vida e o tempo de sobrevivência (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012). Porém, o AZT não tem um desempenho tão bom nos gatos FeLV positivos como nos gatos FIV positivos (Sykes & Hartmann, 2013).

A dose a administrar é de 5 a 10 mg/kg, por via PO ou SC a cada 12h (Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). As doses elevadas devem ser administradas com precaução devido aos efeitos secundários que podem induzir como anemia não-regenerativa (Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). A administração de AZT está contraindicada em gatos que apresentem depressão grave da MO e em associação com fármacos mielossuppressores. Nos doentes renais crónicos a dose deve ser reduzida (Hartmann, 2012).

### **3.6.3. IMUNOMODULADORES E INDUTORES DO INTERFERÃO**

Ainda existem poucos estudos publicados que suportem a eficácia dos imunomoduladores na melhoria clínica e na longevidade dos gatos infetados pelo FeLV (ABCD, 2012b; Hartmann, 2012). No entanto, foi sugerido que alguns destes imunomoduladores podem ser benéficos por permitirem restaurar parte da função imunitária comprometida, possibilitando ao paciente reduzir a carga viral, contribuindo assim para a sua melhoria (ABCD, 2012b).

O rFeIFN- $\omega$  inibe a replicação do FeLV *in vitro* diminuindo a viabilidade e acelerando a apoptose das células infetadas pelo vírus (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012).

O tratamento de gatos virêmicos contribui para melhorar os sinais clínicos e o tempo de sobrevivência mas não reduziu a virémia (Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; Costa & Norsworthy, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012).

A dose recomendada é de  $10^6$  UI/kg, via SC, a q 24h em cinco dias consecutivos, em 3 ciclos (Levy *et al.*, 2008a; ABCD, 2012b) começando ao dia 0, 14 e 60 (Sykes & Hartmann, 2013).

A imunoterapia com fármacos como IFN- $\alpha$ , proteína A do *Staphylococcus*, *Propionibacterium* ou o Acemannan atenuou a severidade dos sinais clínicos nalguns pacientes mas são necessários mais para comparar o seu benefício (Lappin, 2006; Hartmann, 2012). Outros estudos também demonstraram melhoria clínica com a administração de IFN- $\omega$  ainda que num curto espaço de tempo (2 meses) (Sykes & Hartmann, 2013).

### **3.7. PROGNÓSTICO**

O prognóstico de gatos infectados pelo FeLV é reservado (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). A idade do gato no momento da infecção é o determinante mais importante da evolução clínica, sendo os gatinhos os mais suscetíveis (ABCD, 2012b).

Os gatos FeLV positivos vivem cerca de menos 10 meses que os gatos não infectados por FeLV (Gleich *et al.*, 2009). Segundo alguns estudos, aproximadamente 30% dos gatos infectados tornam-se persistentemente infectados e geralmente morrem por doenças relacionadas com o FeLV dentro de 2 a 3 anos, outros 30% tornam-se transitoriamente virêmicos, desenvolvem Ac e recuperam da infecção em 4 a 6 semanas (Kim, 2011). No entanto, estudos mais recentes afirmam que com cuidados de saúde adequados os gatos FeLV positivos podem viver muitos anos (Hartmann, 2012).

### **3.8. PREVENÇÃO E CONTROLO**

A prevenção e o controlo das infeções por FeLV exigem a identificação e a segregação dos gatos infectados e, idealmente, a vacinação dos gatos negativos nos testes de diagnóstico (Levy *et al.*, 2006; Levy *et al.*, 2008a; Little *et al.*, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012).

Como o vírus é eliminado em várias excreções do corpo (em elevada concentração na saliva), a melhor forma de prevenir a disseminação do FeLV é isolar os animais infectados e evitar a sua interação com outros gatos (Lappin, 2006; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012). Os gatos FeLV positivos não devem ter acesso à rua para evitar o contágio de outros gatos e a sua exposição a agentes oportunistas (Lappin, 2006; Levy *et al.*, 2008a; Sykes & Hartmann, 2013). Se um gato que coabita com outros gatos é diagnosticado com FeLV, todos os coabitantes devem ser testados (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). O ABCD chama a atenção para a necessidade de proteger os gatos negativos e

vacinados que vivem com gatos FeLV positivos, porque a vacina contra o FeLV não é 100% eficaz (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012).

Os bebedouros, os comedouros e as caixas sanitárias (*litter*) não devem ser compartilhados por gatos positivos e negativos pois podem funcionar como fontes de exposição ao FeLV (Lappin, 2006; Sykes & Hartmann, 2013).

Deve ser realizado regularmente o controlo parasitário (interno e externo) e a sua alimentação deve ser isenta de carne crua ou mal cozida, devido ao risco de infeções bacterianas e parasitárias (*T. gondii*, *Cryptosporidium parvum*, *Giardia* spp.) ou outros agentes infecciosos uma vez que os gatos FeLV são mais suscetíveis (Lappin, 2006; Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; Costa & Norsworthy, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012).

Gatos infetados e assintomáticos devem fazer check-ups clínicos semestrais com realização de hemograma completo, bioquímicas e urianálise (Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b).

Todos os gatos FeLV positivos devem ser esterilizados para eliminar o risco de transmissão vertical e lactogénica do vírus, e para reduzir os conflitos entre os animais. Em geral esta cirurgia é bem tolerada pelos gatos infetados assintomáticos (Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; Costa & Norsworthy, 2011; ABCD, 2012b; Sykes & Hartmann, 2013).

Os gatis municipais, abrigos, etc., devem proceder à eutanásia dos gatos positivos ao FeLV e doentes (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Sykes & Hartmann, 2013). No entanto, os gatos FeLV positivos e assintomáticos podem ser adotados por famílias que garantam a ausência de risco de infeção para outros gatos (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). Para evitar a transmissão de FeLV num gatil, os gatos devem, ser alojados individualmente. Se estão alojados em grupos, os gatos FeLV-positivos e negativos devem estar separados, devendo optar-se pela vacinação dos animais sãos (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b).

Está recomendado efetuar testes de diagnóstico de FeLV, uma ou duas vezes por ano, aos felinos reprodutores (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b).

O FeLV mantém-se viável por um curto período tempo fora do hospedeiro (24 a 48 horas), e é facilmente inativado por desinfetantes, sabão, aquecimento e secagem (Danner *et al.*, 2007; Lutz *et al.*, 2009; Costa & Norsworthy, 2011; Little *et al.*, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012; Scherk *et al.*, 2013b; Sykes & Hartmann, 2013), por isso a sua transmissão por fomites é pouco provável (Cotter, 1998, citado por Danner *et al.*, 2007; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012). Porém, existe um potencial para a transmissão iatrogénica através de agulhas contaminadas, instrumentos cirúrgicos ou de transfusões sanguíneas (Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; Costa & Norsworthy, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012). Todos os instrumentos cirúrgicos e dentários, os tubos endotraqueais e todos os outros objetos potencialmente contaminados com fluidos corporais (e.g. saliva, sangue) de gatos infetados por FeLV devem ser cuidadosamente lavados e esterilizados entre cada utilização (Levy *et al.*, 2008a; Little *et al.*, 2011; Hartmann, 2012).



Todos os dadores de sangue devem ser testados para a presença do antígeno e do provírus, de modo a evitar a transmissão de FeLV ao animal recetor (Levy *et al.*, 2008a; Costa & Norsworthy, 2011; Little *et al.*, 2011; Hartmann, 2012). O FeLV já foi detetado nos tecidos da córnea de gatos, por isso o rastreio de potenciais dadores de córnea para a infeção por FeLV também deve ser assegurado (Hartmann, 2012).

### **3.8.1. VACINAÇÃO**

A realização de programas vacinais em gatos FeLV positivos é controversa (Levy *et al.*, 2008a; ABCD, 2012b). A ABCD (2012b) recomenda a vacinação dos gatos FeLV positivos para prevenir as doenças infecciosas mais frequentes. No entanto, estes gatos podem não conseguir montar uma resposta imunológica adequada, como acontece com a vacinação contra a raiva. Assim em países endémicos de raiva e se o gato tiver vida semilivre ou livre deve ser considerado uma vacinação antirrábica semestral (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). Deve optar-se por vacinas inativadas uma vez que as vacinas vivas atenuadas podem causar sintomas em gatos imunossuprimidos (Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; ABCD, 2012c; Sykes & Hartmann, 2013).

A primeira vacina contra o FeLV foi lançada nos USA em 1984 (ABCD, 2012b). Existem atualmente várias vacinas vivas, recombinadas ou inativadas, com ou sem adjuvante, disponíveis comercialmente na Europa (Levy *et al.*, 2008a; ABCD, 2012b).

Nenhuma vacina contra o FeLV garante uma proteção de 100% contra a infeção (Levy *et al.*, 2008a; Gleich *et al.*, 2009; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013) e nem todos os gatos montam uma resposta imunitária semelhante pós vacinação (Dunham & Graham, 2008; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012). Um estudo realizado com o objetivo de investigar a eficácia da vacina contra o FeLV numa colónia de 30 gatos domésticos naturalmente expostos ao vírus concluiu que a vacina imunizou os gatos FIV-negativos, mas falhou na proteção dos gatos infetados com FIV (Hartmann, 2012). No entanto, a ABCD mantém a recomendação de vacinação contra o FeLV em gatos FIV positivos mas assintomáticos em risco de infeção (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b).

A vacina contra o FeLV deve ser incluída no programa de vacinação nos gatos que possam contactar com outros gatos (Lutz *et al.*, 2009; Little *et al.*, 2011; ABCD, 2012b). A proteção que a vacina confere contra esta infeção potencialmente fatal justifica a vacinação, os benefícios para a maioria dos gatos superam consideravelmente qualquer risco de efeitos adversos (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). Em situações em que a probabilidade de exposição é reduzida, a vacinação não é necessária (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). As variações geográficas da prevalência de FeLV e as condições de vida dos gatos podem influenciar esta decisão (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b).

A vacinação deve ser realizada em todos os gatos em risco de exposição que exibam um resultado negativo à pesquisa do agente (Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; Little *et al.*, 2011; ABCD, 2012b; Hartmann, 2012; Scherk *et al.*, 2013b). Recomenda-se que os gatos sejam vacinados por via SC entre as 8 - 9 semanas de idade, às 12 semanas e depois anualmente (Levy *et al.*, 2008a; Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). No entanto, considerando a menor suscetibilidade à infecção dos gatos adultos, o ABCD sugere que para gatos com mais de três a quatro anos de idade, é suficiente revacinar a cada dois ou três anos (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b; Scherk *et al.*, 2013b). A maior probabilidade de os gatos mais velhos puderem desenvolver sarcomas associados à vacinação reforça esta opção (Hartmann, 2012).

Os gatos com doença aguda não devem ser vacinados, porém os gatos com doenças crônicas como doença renal, *diabetes mellitus* ou hipertireoidismo poderão ser vacinados regularmente se estiverem controlados e em risco de infecção (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b). O uso concomitante de glucocorticoides durante o calendário vacinal deve ser evitado (Lutz *et al.*, 2009; ABCD, 2012b).

É conhecida a existência de uma associação epidemiológica entre o local de administração parental de vacinas e o desenvolvimento de sarcoma dos tecidos moles (Lappin, 2006; Dunham & Graham, 2008; Hartmann, 2012), particularmente de vacinas com adjuvantes (Lappin, 2006). O fibrossarcoma é o sarcoma mais frequente (Lappin, 2006; Dunham & Graham, 2008; Hartmann, 2012). Estes tumores podem aparecer 4 meses a 2 anos após a vacinação com uma média de aproximadamente 1 ano (Hartmann, 2012). A AAFP recomenda a administração da vacina no membro posterior esquerdo, o mais distal possível, de modo a permitir a excisão cirúrgica no caso de desenvolvimento do sarcoma (Hartmann, 2012; Sykes & Hartmann, 2013; Scherk *et al.*, 2014). Qualquer nódulo que apareça no local da injeção num período superior a 3 meses da administração da vacina deve ser removido e analisado histologicamente (Hartmann, 2012). Assim, deve-se optar, se possível, por uma vacina que permite uma revacinação de 2-2 ou 3-3 anos e sem adjuvantes (Hartmann, 2012). Encontram-se licenciadas vacinas recombinadas com o vírus *Canarypox*, sem adjuvante, que são muito seguras e eficazes (Dunham & Graham, 2008; Little *et al.*, 2011; Hartmann, 2012).

### **3.9. IMPORTÂNCIA NA SAÚDE PÚBLICA**

O potencial zoonótico do FeLV ainda não está completamente descartado. Experimentalmente, o vírus consegue replicar-se em cultura de células da MO humanas, embora, até ao momento, nunca tenha sido detetado no soro de nenhum indivíduo em estudos epidemiológicos, sugerindo que o risco zoonótico desse agente viral é residual (Lappin, 2006; Hartmann, 2012).

Noutra perspetiva, os gatos positivos a FeLV imunossuprimidos, podem ser portadores de agentes zoonóticos como *C. parvum* e *Salmonella* spp., podendo transmitir estes agentes aos humanos, especialmente a grupos de risco elevado como os imunossuprimidos (Lappin, 2006; Hartmann, 2012).

## **CAPÍTULO III – ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO**

### **1. OBJETIVOS**

O objetivo principal deste estudo é detetar a presença dos vírus da imunodeficiência felina e da leucose felina numa amostra de gatos da ilha de São Miguel, arquipélago dos Açores.

O estímulo para a realização deste estudo resultou do facto destas duas viroses não estarem oficialmente confirmadas em São Miguel e de a opinião generalizada dos clínicos de animais de companhia na ilha, sustentar que estes vírus não são endémicos nas populações de gatos insulares pois nos casos pontuais em que recorrem a testes laboratoriais para pesquisa do vírus/anticorpos em animais suspeitos, os resultados serem negativos.

Porém, esta avaliação está distorcida por não ser prática de rotina a realização de testes de imunocromatografia rápida durante as consultas quer numa ótica preventiva e de apoio à decisão sobre os calendários de vacinação a implementar, quer para refutar ou confirmar suspeitas clínicas de FIV ou FeLV e não está fundamentada em estudos epidemiológicos observacionais.

### **2. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **2.1. TIPO DE ESTUDO**

Estudo epidemiológico observacional do tipo transversal analítico realizado numa amostra da população de gatos de São Miguel, sem conhecimento prévio da sua condição sanitária para FIV e FeLV.

#### **2.2. MÉTODO DE AMOSTRAGEM**

Optou-se por realizar uma amostragem não-probabilística, selecionando intencionalmente gatos de grupos de risco elevado ou com sinais clínicos compatíveis com FIV e/ou FeLV.

#### **2.3. TAMANHO DA AMOSTRA**

Noventa gatos nos concelhos de Ponta Delgada, Ribeira Grande e Vila Franca do Campo. Este tamanho da amostra foi condicionado pela verba disponibilizada à Candidata pelo Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal (C.I.I.S.A.) da Faculdade de Medicina Veterinária para a realização de análises laboratoriais.

## 2.4. CRITÉRIO DE INCLUSÃO DE ANIMAIS NA AMOSTRA

Foi imposto o seguinte critério de inclusão para um gato integrar a amostra: apresentar pelo menos duas das sete condições seguintes, sendo obrigatórias a condição de vida livre e idade superior a 6 meses:

1. Condição de vida livre;
2. Mais de 6 meses de idade;
3. Condição corporal igual a muito magro ou magro;
4. Presença de feridas ou de cicatrizes;
5. Presença de linfonodos hipertrofiados;
6. Presença de rinotraqueíte;
7. Presença de gengivo-estomatite.

No contexto desta dissertação entende-se por gato errante (*vadio*; de vida livre, *free-roaming*) os animais enquadrados numa das seguintes condições (Decreto-Lei n.º 314/2003; World Organization for Animal Health [OIE], 2013):

- gatos com dono, presentes na via pública sem controlo ou identificação;
- gatos protegidos por alguém que os conhece, os alimenta e com quem interagem;
- gatos sem dono (*stray cats*).

Reportam-se como gatos assilvestrados (*feral*), os animais que cumpram uma das seguintes condições (World Health Organization [WHO], 1990):

- gatos que perderam a capacidade de sociabilização por terem sido abandonados há bastante tempo;
- gatos que já nasceram nesta condição.

A esmagadora maioria dos gatos testados no presente estudo foram categorizados como errantes (n=76, 84,4%) à exceção de 10 animais (11,1%) que integravam uma colónia de gatos assilvestrados em São Vicente de Ferreira e de 4 gatos de uma colónia fechada de um proprietário individual (4,4%).

O critério utilizado para considerar um gato com mais de 6 meses de idade baseou-se na observação dos dentes caninos definitivos e foi sempre realizado pela Candidata de acordo com Clair (1986).

A avaliação da condição corporal dos gatos foi feita segundo escala disponibilizada pela *Royal Canin* e baseada no trabalho de Laflamme *et al.* (1997), que estabeleceram cinco patamares: muito magro, magro, peso ideal, excesso de peso, acentuadamente obeso (Anexo 2). A avaliação da condição corporal dos gatos que integraram a amostra do presente estudo foi sempre feita pela Candidata.

Para avaliação da presença de feridas ou de cicatrizes, de linfonodos hipertrofiados, de gengivo-estomatite e de sintomas de infeção do trato respiratório superior, a Candidata realizou o exame de estado geral a todos os gatos após se proceder à anestesia dos animais.

## 2.5. PERÍODO DE ESTUDO

A componente “de campo” do presente estudo decorreu de 25 de Março de 2013 a 12 de Novembro de 2013.

A componente laboratorial foi realizada de 24 a 28 de Fevereiro de 2014 no Laboratório de Virologia da Faculdade de Medicina Veterinária sob a supervisão da Professora Doutora Ana Duarte.

No total, o estudo demorou sete meses e meio.

## 2.6. ENTIDADES PARCEIRAS

A viabilidade e o sucesso do plano de amostragem deveram-se à colaboração de cinco entidades, públicas e privadas, de São Miguel:

- Centro de Recolha Oficial de Animais de Companhia de Ponta Delgada (CRO);
- Associação Animais de Rua (AAR);
- Sociedade de Empreendimentos Avícolas e de Frio, Lda. (AVIGEX);
- Clínica Veterinária de Vila Franca do Campo;
- Clínica Veterinária de Santana.

Todos os contactos foram estabelecidos pela Candidata e todos os canais de comunicação foram definidos pela Candidata.

### 2.6.1. CANIL MUNICIPAL DE PONTA DELGADA

O Canil Municipal de Ponta Delgada é a entidade licenciada para funcionar como CRO. Está localizado na Estrada das Murtas, junto ao Azores Park, no concelho de Ponta Delgada. Dispõe de 59 canis, 6 dos quais adaptados para gatos e tem uma capacidade total para 200 animais (Figura 8) (Câmara Municipal de Ponta Delgada, 2013).

A equipa técnica é constituída por um médico veterinário, uma engenheira zootécnica e dois tratadores (Câmara Municipal de Ponta Delgada, 2013).

**Figura 8:** Canil de Ponta Delgada (foto disponível em <http://cm-pontadelgada.azoresdigital.pt/>)



Para maximizar o período de recolha de amostras e aumentar a diversidade das capturas, a Candidata fixou dois dias úteis por semana (terça-feira e quinta-feira) nos quais se dirigia ao CRO para recolher amostras de sangue e registar dados clínicos dos animais. Estas tarefas foram sempre realizadas com a ajuda de um tratador e do médico veterinário municipal.

Todos os gatos investigados do CRO correspondem a animais errantes recolhidos no concelho de Ponta Delgada que tem uma área de 231,90 km<sup>2</sup>, subdivididos em 24 freguesias (Figura 9). O município é limitado a leste pelos municípios da Ribeira Grande e da Lagoa e pelo oceano Atlântico a norte, sul e oeste (Freguesia do Livramento, 2009).

**Figura 9:** Representação da área que o Concelho de Ponta Delgada abrange na Ilha de São Miguel (disponível em <http://livramento.no.sapo.pt/>)



### **2.6.2. ASSOCIAÇÃO ANIMAIS DE RUA**

A Associação Animais de Rua (ARR) foi constituída em 2005 com o principal objetivo de esterilizar e proteger animais em risco. Neste âmbito as suas atividades enquadram-se numa abordagem CED (captura-esterilização-devolução à origem) (Associação Animais de Rua, 2010).

No decorrer do estudo, o núcleo da AAR do concelho de Ponta Delgada (PDL) iniciou uma parceria com o Canil de PDL, ao abrigo da qual, autorizou a recolha de sangue dos gatos capturados para esterilização.

Todos os gatos incluídos nesta fração da amostra foram capturados no perímetro da cidade de Ponta Delgada.

### **2.6.3. AVIGEX - SOCIEDADE DE EMPREENDIMENTOS AVÍCOLAS E DE FRIO**

Outra entidade açoriana que colaborou no estudo foi a AVIGEX Sociedade de Empreendimentos Avícolas e de Frio, Lda., que tem como principal atividade a desmancha e embalagem de carne de frango e a comercialização de carne de bovino e de suíno, de ovos, vegetais e laticínios.

A Candidata conseguiu permissão da AVIGEX para capturar gatos assilvestrados da colónia que vive no perímetro das suas instalações na Estrada Regional aos Beirais em São Vicente Ferreira.

A captura dos gatos foi feita com gaiolas de 100x25x35cm com uma plataforma basculante que quando pisada pelo animal aciona o fecho automático das portas (Figura 10).

**Figura 10:** Gaiola utilizada para capturar os gatos assilvestrados da colónia presente no perímetro das instalações da AVIGEX (Fotografia original de Sílvia Botelho)



Para isco utilizou-se pintos moribundos rejeitados pelo médico-veterinário da AVIGEX (Figura 11). Para estas operações, o Canil Municipal de PDL disponibilizou um tratador e material. Após a captura os gatos foram anestesiados, ainda na gaiola, com ketamina (0,1ml por kg de PV, IM, Clorketam 1000<sup>®</sup>) associada à xilazina (0,1ml por kg de PV, IM, Nerfasin 20mg/ml<sup>®</sup>), colocados numa caixa transportadora até à chegada ao canil, onde se procedeu à recolha de sangue. Todas estas operações foram coordenadas e corealizadas pela Candidata.

**Figura 11:** Gatos capturados na colónia da AVIGEX (Fotografia original de Sílvia Botelho)



#### **2.6.4. CLÍNICAS VETERINÁRIAS PRIVADAS**

Com a colaboração dos gestores das Clínicas Veterinárias de Santana e de Vila Franca do Campo foi ainda possível à Candidata recolher sangue a 17 gatos provenientes de 2 colónias cujos proprietários levaram os gatos à consulta devido a exibirem:

i) quadros de gengivo-estomatite crónica (n=9);

ii) quadros severos de doença infecciosa do trato respiratório superior (n=4);

aos quais se viriam a juntar, 3 gatos errantes recolhidos da rua e trazidos à Clínica Veterinária de Santana por pessoas que se sensibilizaram com o seu mau estado geral associado a feridas (n=1), associado a febres persistentes (n=1), uma parturiente em má condição corporal cuja ninhada morreu (n=1), e uma gata com sinais neurológicos e uma massa tumoral apresentada pelo proprietário (n=1).

#### **2.7. COLHEITA, ACONDICIONAMENTO E ENVIO DAS AMOSTRAS**

A colheita das amostras foi efetuada pela Candidata no Canil Municipal de Ponta Delgada e nas Clínicas Veterinárias de Santana e de Vila Franca do Campo.



Enquanto o animal se encontrava anestesiado, a Candidata procedeu à colheita de sangue por punção nas veias cefálica e/ou femoral, recolhendo cerca de 1,5 ml de sangue total periférico para tubos com EDTA e para *eppendorfs* com RNAlater® (Ambion®). Estes tubos foram mantidos sob refrigeração numa caixa térmica durante o seu transporte para a Clínica Veterinária de Santana onde as amostras de sangue total em EDTA foram centrifugadas durante 5 minutos a 2000 x g, para obtenção de plasma. Os *eppendorfs* com o sangue total em RNAlater® foram mantidos refrigerados, a 4-5°C e o plasma transportado em refrigeração pela Candidata ao Laboratório dos Serviços de Desenvolvimento Agrário de São Miguel, onde foram congelados a -20°C.

No final do período de recolha, as amostras foram enviadas por correio expresso em caixa isotérmica de esferovite com acumuladores de frio com destino ao C.I.I.S.A..

## **2.8. FICHA PARA RECOLHA DE DADOS DOS PACIENTES**

Após proceder à anestesia dos animais, a Candidata realizou o exame de estado geral e registou numa ficha - elaborada pela própria - os dados e os sinais clínicos observados.

Disponibiliza-se no Anexo 3, um exemplar da ficha usada para recolha sistemática dos seguintes dados:

- Nº da amostra
- Data da recolha
- Local da recolha
  
- Identificação animal:
  - Raça
  - Sexo
  - Idade
  - Inteiro/Castrado
  
- Estilo de vida (Errante, Assilvestrado e Colónia “fechada”)
  
- Prostração (Sim/Não)
- Condição corporal (Muito magro, Magro, Peso ideal, Excesso de peso, Acentuadamente obeso)
- Presença de feridas e/ou cicatrizes (Sim/Não)
- Cor das mucosas (Rosadas, Pálidas, Ictéricas)
- Sintomas respiratórios:
  - Corrimento ocular (Sim/Não)
  - Corrimento nasal (Sim/Não)
  - Espirros (Sim/Não)
  - Dispneia (Sim/Não)
  - Ruídos respiratórios (Sim/Não)
- Sintomas de gengivo-estomatite:
  - Gengivite (Sim/Não)
  - Estomatite (Sim/Não)
  - Úlceras (Sim/Não)
  - Lesões de reabsorção odontoclásticas (Sim/Não)
- Linfonodos hipertrofiados (Sim/Não)

## 2.9. BASE DE DADOS PARA ARMAZENAMENTO E ANÁLISE ESTATÍSTICA DE DADOS

A Candidata construiu uma base de dados no programa informático *Microsoft® Office Excel* 2007, onde introduziu os dados dos 90 gatos investigados e realizou a análise exploratória dos dados (Anexo 6).

O cálculo do intervalo de confiança da proporção de gatos infetados com FIV e com FeLV foi realizado na aplicação WEB *VassarStats* disponível no sítio da internet *Website for Statistical Computation* em <http://vassarstats.net/>.

A estatística inferencial para investigação de potenciais fatores de risco foi realizada no programa informático *Epi Info™*, versão 7.1.3.3.. Utilizámos o teste de qui-quadrado de Mantel-Haenszel para uma distribuição bi-caudal, a probabilidade de significância escolhida foi de 0,05 e sempre que existiam valores inferiores a 5 nas tabelas de contingência, recorremos ao teste exato de Fisher para calcular o valor-*p*.

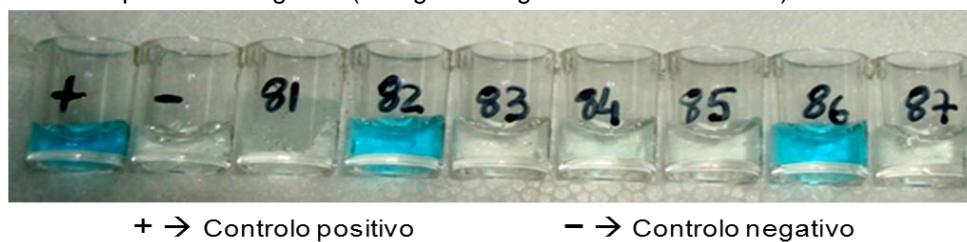
O cálculo da prevalência real foi feito na aplicação *WinEpiscope* disponível em <http://www.winepi.net/>, recorrendo aos valores de sensibilidade e de especificidade publicados por Hartmann *et al.* (2007), segundo a fórmula: Prevalência Real = (Prevalência aparente + Especificidade do Teste – 1) ÷ (Sensibilidade do Teste + Especificidade do Teste – 1).

## 2.10. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Para o diagnóstico laboratorial de FIV e FeLV recorremos aos testes de ELISA, *ViraCHECK®FIV* e *ViraCHECK®FeLV* da *Synbiotics Corporation®*. A amostra biológica processada foi plasma, de acordo com o protocolo disponibilizado pelo fabricante (Anexos 4 e 5).

O *ViraCHECK®FIV* baseia-se na pesquisa de anticorpos específicos contra o FIV. Os poços da placa de ELISA estão revestidos com proteína A de *Staphylococcus aureus* que apresenta alta afinidade para a região Fc das imunoglobulinas. Pinga-se a amostra a analisar e uma proteína viral conjugada com a enzima peroxidase, e incuba-se durante 10 minutos. Se os anticorpos contra o FIV estiverem presentes na amostra, o tempo de incubação vai permitir a formação de complexos anticorpo-antigénio e a sua ligação à proteína A. De seguida, lava-se os poços para eliminar a enzima livre e adiciona-se o substrato enzimático com o cromogénio para procedermos à revelação. O aparecimento de cor azul indica a presença de anticorpos contra o FIV. Ao invés, a ausência de mudança da cor, expressa a ausência de anticorpos (Synbiotics Corporation, 2013). Em todas as amostras testadas foi realizado um controlo positivo e um controlo negativo (Figura 12).

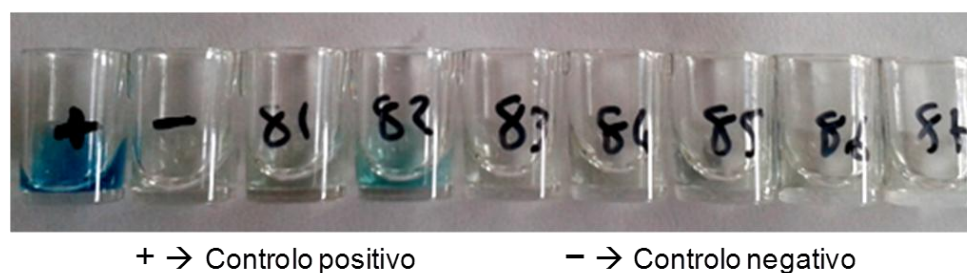
**Figura 12:** Resultados obtidos das amostras 81 à 87 ao teste de FIV, com os controlos positivo e negativo (Fotografia original de Sílvia Botelho)



O ViraCHECK®FIV tem uma excelente especificidade (99,8%) e uma boa sensibilidade (92,6%) (Hartmann *et al.*, 2007). É fácil de executar e os resultados são obtidos em 15 minutos.

O ViraCHECK®FeLV fundamenta-se na pesquisa de antígeno, nomeadamente da proteína do vírus p27. Os poços estão revestidos com anticorpos específicos contra a p27. Pinga-se a amostra a analisar e de seguida um reagente composto por anticorpos monoclonais específicos contra o antígeno viral ligados à enzima peroxidase. Incuba-se durante 5 minutos. Se o antígeno estiver presente, liga-se aos anticorpos fixos nos poços e aos anticorpos conjugados com a enzima ao antígeno. Após a incubação procede-se à lavagem dos poços para retirar os anticorpos conjugados à enzima livres e adiciona-se o substrato enzimático com o cromogénio para proceder à revelação. O aparecimento de uma cor azul indica a presença do antígeno, enquanto, que a ausência de alteração de cor indica a ausência da p27 no plasma do gato testado (Synbiotics Corporation, 2013) (Figura 13).

**Figura 13:** Resultados obtidos das amostras 81 à 87 ao teste do FeLV com os controlos positivo e negativo (Sílvia Botelho)



O ViraCHECK®FeLV tem uma especificidade muito boa (98,4%) e uma boa sensibilidade (94,9%) (Hartmann *et al.*, 2007). É fácil de executar e os resultados são obtidos em 10 minutos.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. LOCAL DE CAPTURA

Como se pode observar na Tabela 3, a maioria dos gatos investigados foi capturada ou recolhida no concelho de Ponta Delgada (84,4%). Este cenário foi determinado pelos raios de ação do Centro de Recolha Oficial de Animais de Companhia/Canil de Ponta Delgada e da Associação Animais de Rua. As instalações do aviário da AVIGEX também estão localizadas no concelho de Ponta Delgada onde capturámos dez gatos assilvestrados de uma colónia que habita no perímetro do aviário.

**Tabela 3:** Concelho de captura/recolha de gatos

CONCELHO	Nº	%
Ponta Delgada	76	84,4
Ribeira Grande	5	5,6
Vila Franca do Campo	9	10,0
Total	90	100

Dos cinco gatos estudados no concelho de Ribeira Grande, quatro pertenciam a um gatil financiado e supervisionado por um proprietário privado. Do ponto de vista epidemiológico este gatil é uma “população fechada” pois os animais estão contidos e não têm contactos com gatos do exterior. O quinto gato investigado foi apresentado pelo seu proprietário numa consulta na Clínica Veterinária de Santana.

Os nove gatos estudados no concelho de Vila Franca do Campo provinham de uma colónia de gatos errantes alimentada e protegida por um benfeitor. Esta colónia é do ponto de vista epidemiológico uma “população aberta” pois mantém contactos diários com outros gatos de vida semilivre ou errantes.

#### 3.2. PARCEIROS

A instituição que mais colaborou connosco nas capturas/recolhas de gatos foi o CRO (48,9%), seguido da AAR (21,1%), o que é revelador da intervenção que estas entidades têm no controlo das populações errantes de animais de companhia no território regional/nacional. São parceiros incontornáveis e fundamentais para a concretização de um estudo como o presente.

**Tabela 4:** Gatos capturados/recolhidos pelos parceiros do estudo

PARCEIROS	Nº de Gatos	%
Centro de Recolha Oficial	44	48,9
Associação Animais de Rua	19	21,1
Proprietários de colónias	13	14,4
AVIGEX	10	11,1
Proprietários individuais	4	4,5
Total	90	100

### 3.3. RAÇA

Todos os gatos incluídos no estudo foram classificados pela Candidata como de raça indeterminada por não apresentarem padrões característicos de nenhuma raça.

### 3.4. SEXO

Na Tabela 4 revelamos que há um equilíbrio entre machos e fêmeas na amostra estudada com uma ligeira sobre-representação de machos.

**Tabela 5:** Distribuição de sexos na amostra

SEXO	Nº	%
Fêmea	41	45,6
Macho	49	54,4
Total	90	100

Como seria expectável num estudo que incidiu sobretudo em gatos errantes, uma proporção muito elevada dos machos (93,9%) eram inteiros (Tabela 5). A metodologia utilizada para aferir desta condição foi a palpação dos testículos enquanto os animais estavam anestesiados.

**Tabela 6:** Proporção de animais castrados na amostra

CASTRAÇÃO	Nº	%
<b>MACHOS</b>		
Sim	3	6,1
Não	46	93,9
Subtotal	49	
<b>FÊMEAS</b>		
Sim	7	17,0
Não	14	34,2
Desconhecido	20	48,8
Subtotal	41	

Desconhecemos se 20 gatas (48,8%) eram ou não castradas. Estas fêmeas foram capturadas/recolhidas com a colaboração do CRO e não havia registos que nos pudessem elucidar se tinham tido proprietários que, eventualmente, as tivessem mandado esterilizar.

As fêmeas em que conhecemos essa condição (inteira/castrada) ou foram capturadas pela AAR para serem esterilizadas ou tinham proprietário que confirmou a sua castração. Verificávamos a existência ou ausência dos ovários no momento em que esterilizávamos as gatas da AAR.

### 3.5. IDADE

Na ausência de registos que indicassem datas de nascimento precisas, a extrapolação da idade dos animais investigados foi feita com base na fórmula dentária, segundo Clair (1986). Todos os gatos exibiam caninos definitivos pelo que os categorizámos como animais com idade superior a 6 meses de idade.

Mais uma vez, esta imprecisão do nosso estudo foi condicionada pela singularidade da nossa população amostrada.

### 3.6. CONDIÇÃO DE VIDA

Na Tabela 6 mostra-se que 95,5% dos gatos investigados tinham hábitos de vida livre (errantes + assilvestrados), potenciadores de múltiplos contactos, diretos e indiretos, com gatos e/ou produtos virulentos, o que os torna animais em risco elevado de exposição a agentes infecciosos transmitidos por mordedura/arranhadelas, via vertical, ingestão, etc.

**Tabela 7:** Estilo de vida dos gatos incluídos na amostra

CONDIÇÃO DE VIDA	Nº	%
Errantes	76	84,4
Assilvestrados	10	11,1
Gatil "privado"	4	4,4
Total	90	100

### 3.7. CONDIÇÃO CORPORAL

Cerca de metade dos gatos estudados apresentou uma condição corporal magra (52,2%). Todavia 37,8% dos gatos foram classificados como com o "peso ideal", segundo a grelha disponibilizada no Anexo 2. Esta proporção pode refletir o acesso regular a fontes de alimento, às quais não serão alheios os hábitos da população micaelense de alimentar gatos errantes e a afeição dos benfeitores de algumas colónias/gatis privados.

**Tabela 8:** Avaliação da condição corporal dos gatos da amostra

CONDIÇÃO CORPORAL	Nº	%
Muito magro	7	7,8
Magro	47	52,2
Peso ideal	34	37,8
Excesso de peso	2	2,2
Acentuadamente obeso	0	0,0
Total	90	100

Só 7 gatos da amostra apresentaram as condições de “Muito magro” (7,8%) e no outro extremo, 2 gatos foram classificados como em “Excesso de peso” (2,2%). Nenhum gato apresentou a condição corporal de “Acentuadamente obeso”.

### 3.8. SINAIS CLÍNICOS

Apesar de desconhecemos a história clínica destes animais, todos os animais da amostra foram submetidos a exame clínico aos animais capturados/recolhidos. Apresentamos de seguida os resultados obtidos.

#### 3.8.1. PROSTRAÇÃO

A esmagadora maioria dos gatos investigados não apresentava prostração (84,4%).

**Tabela 9:** Avaliação do sinal clínico: prostração

PROSTRAÇÃO	Nº	%
Sim	14	15,6
Não	76	84,4
Total	90	100

Este sinal clínico foi avaliado no momento em que o gato recolhido/capturado se confrontou com a presença da equipa (CRO, AAR ou AVIGEX). Nos gatos com proprietário foi possível reforçar a nossa avaliação pela história pregressa.

#### 3.8.2. HIPERTROFIA DOS LINFONODOS

A avaliação do tamanho dos linfonodos superficiais foi feita por palpação.

**Tabela 10:** Avaliação do sinal clínico: hipertrofia dos linfonodos

LINFONODOS	Nº	%
Normais	63	70,0
Hipertrofiados	27	30,0
Total	90	100

Apenas 27 gatos (30%) apresentavam hipertrofia de um ou mais linfonodos superficiais.

#### 3.8.3. PRESENÇA DE FERIDAS E/OU DE CICATRIZES

A presença de feridas ou cicatrizes foi estabelecida por visualização durante o exame do estado geral do gato anestesiado ou foi inicialmente relatada pelo proprietário, e depois, confirmada por observação.

**Tabela 11:** Avaliação do sinal clínico: presença de feridas e/ou cicatrizes

FERIDAS/CICATRIZES	Nº	%
Sim	35	38,9
Não	55	61,1
Total	90	100

Na amostra 38,9% dos gatos apresentavam feridas e/ou cicatrizes.

#### 3.8.4. COLORAÇÃO DAS MUCOSAS

Como se pode verificar na Tabela 12, 87,8% dos gatos apresentou mucosas com coloração rosada.

**Tabela 12:** Avaliação do sinal clínico: coloração das mucosas

COLORAÇÃO DAS MUCOSAS	Nº	%
Rosadas	79	87,8
Pálidas	9	10,0
Ictéricas	2	2,2
Total	90	100

Ambos os gatos que apresentaram mucosas ictéricas no exame clínico provinham do CRO.

#### 3.8.5. PRESENÇA DE CORRIMENTOS E ALTERAÇÕES OCULARES

Constatámos que a maioria dos gatos investigados não apresentava corrimentos oculares (77,8%) (Tabela 13).

**Tabela 13:** Avaliação do sinal clínico: presença de corrimentos oculares

PRESENÇA DE CORRIMENTOS OCULARES	Nº	%
Sim	20	22,2
Não	70	77,8
Total	90	100

Uma proporção ainda maior não apresentava alterações oculares (95,6%).

**Tabela 14:** Avaliação do sinal clínico: presença de alterações oculares

ALTERAÇÕES OCULARES	Nº	%
Sim	4	4,4
Não	86	95,6
Total	90	100

De facto, as 4 alterações oculares detetadas no exame clínico foram depósitos celulares na camada interna da córnea (n=1), anisocoria (n=1), congestão de vasos sanguíneos da esclera (n=1) e edema da córnea (n=1).



### 3.8.6. PRESENÇA DE CORRIMENTOS NASAIS

De novo, a grande maioria dos gatos investigados não apresentou corrimentos nasais (91,1%).

**Tabela 15:** Avaliação do sinal clínico: presença de corrimentos nasais

PRESENÇA DE CORRIMENTOS NASAIS	Nº	%
Sim	8	8,9
Não	82	91,1
Total	90	100

Os corrimentos nasais destes 8 gatos foram caracterizados como serosos (n=5) e mucosos (n=3).

### 3.8.7. PRESENÇA CONCOMITANTE DE CORRIMENTOS OCULARES E NASAIS

Ao emparelhamos as avaliações positivas e negativas da presença de corrimentos oculares e nasais, verificámos que só 4 gatos exibiam estes sinais clínicos em simultâneo (4,4%).

**Tabela 16:** Presença concomitante de corrimentos oculares e nasais

PRESENÇA DE CORRIMENTOS OCULARES e NASAIS	Nº	%
Sim	4	4,4
Não	86	95,6
Total	90	100

De facto, 66 gatos não manifestavam nem corrimentos oculares nem corrimentos nasais (73,3%), o que volta a reforçar um perfil de saúde ocular e do trato respiratório superior bom para gatos errantes e assilvestrados (Tabela 17).

**Tabela 17:** Ausência concomitante de corrimentos oculares e nasais

AUSÊNCIA DE CORRIMENTOS OCULARES e NASAIS	Nº	%
Sim	24	26,6
Não	66	73,3
Total	90	100

### 3.8.8. PRESENÇA DE SINAIS RESPIRATÓRIOS

Nesta avaliação englobamos a auscultação de ruídos anormais e/ou a dispneia (Tabela 18).

**Tabela 18:** Avaliação de sinais respiratórios

SINAIS RESPIRATÓRIOS	Nº	%
Sim	11	12,2
Não	79	87,8
Total	90	100

Apenas 12,2% dos gatos apresentavam sinais respiratórios no exame clínico, o que indica que a grande maioria dos gatos desta amostra ou não foi exposta a agentes infecciosos com tropismo para o trato respiratório superior e pulmão ou estava em condições de montar uma resposta imunitária eficaz capaz de debelar ou de acantonar hipotéticas infecções.

### 3.8.9. PRESENÇA DE GENGIVO-ESTOMATITE

A presença de gengivo-estomatite foi detetada em 55,6% dos gatos da amostra durante a exploração da cavidade oral.

**Tabela 19:** Avaliação do sinal clínico: gengivo-estomatite

GENGIVO-ESTOMATITE	Nº	%
Sim	50	55,6
Não	40	44,4
Total	90	100

Considerando que a gengivo-estomatite crónica felina (GECF) tem sido a síndrome mais identificada em gatos FIV positivos, como referido na revisão bibliográfica da presente dissertação, e que a gengivo-estomatite também é frequente em gatos FeLV positivos, como já mencionado na presente dissertação, este resultado abre expectativas quanto à frequência destas viroses na amostra estudada, que iremos reportar a seguir.

### 3.8.10. SÍNTESE DOS SINAIS CLÍNICOS OBSERVADOS

Para permitir uma visão global dos sinais clínicos encontrados na amostra de gatos investigados, disponibilizamos a Tabela 20.

**Tabela 20:** Frequência de sinais clínicos na amostra de gatos investigados (n=90)

SINAIS CLÍNICOS	Nº Gatos	%
Condição corporal <sup>1</sup>	54	60,0
Mucosas <sup>2</sup>	11	12,2
Prostração	14	15,6
Sinais respiratórios <sup>3</sup>	11	12,2
Gengivo-estomatite	50	55,6
Hipertrofia de linfonodos superficiais	27	30,0
Presença de corrimentos <sup>4</sup>	24	26,7
Presença de alterações oculares <sup>5</sup>	4	4,4
Presença de feridas ou de mordeduras	35	38,9

<sup>1</sup>Condição corporal: muito magro ou magro; avaliada segundo critério de Laflamme *et al.* (1997).

<sup>2</sup>Pálidas ou ictéricas.

<sup>3</sup>Alterações à auscultação ou dispneia.

<sup>4</sup>Nasais ou oculares

<sup>5</sup>Anisocoria, edema da córnea, depósitos celulares na camada interna da córnea, congestão dos vasos sanguíneos da esclera.

### 3.9. FIV

Doze gatos da amostra foram confirmados como infetados com FIV (13,3%) pelo ViraCHECK®FIV (Tabela 21).

**Tabela 21:** Proporção de gatos FIV positivos

FIV	Nº	%
Sim	12	13,3
Não	78	86,7
Total	90	100

Considerando que o teste ViraCHECK®FIV tem 99,8% de especificidade e 92,6% de sensibilidade (Hartmann *et al.*, 2007), a prevalência real calculada para a amostra é de 14,2%.

### 3.10. FeLV

Dos 90 gatos testados pelo ViraCHECK®FeLV apenas 2 gatos, foram confirmados como positivos (2,2%).

**Tabela 22:** Proporção de gatos FeLV positivos

FeLV	Nº	%
Sim	2	2,2
Não	88	97,8
Total	90	100

Como o teste ViraCHECK®FeLV tem uma especificidade de 98,4% e uma sensibilidade de 94,9% (Hartmann *et al.*, 2007) a prevalência real da amostra é 0,6%.

Os dois gatos infetado por FeLV eram machos inteiros, com condição de vida livre e também estavam infetados com FIV. No entanto um dos gatos infetados por FeLV, recolhido no concelho da Ribeira Grande, apresentava uma condição corporal magra, presença de feridas e hipertrofia dos linfonodos. O outro gato da amostra infetado com FeLV foi recolhido no concelho de Ponta Delgada e exibia sinais de gengivo-estomatite.

O número de gatos na nossa amostra infetados com FeLV (n=2) não é suficiente para investigarmos potenciais fatores ou comportamentos de risco.

Para facilidade de consulta reunimos numa tabela (Anexo 6) os resultados obtidos na investigação da amostra numa base individual.

### 3.11. INVESTIGAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS INTRÍNSECAS E EXTRÍNSECAS ASSOCIADA AOS DIAGNÓSTICOS POSITIVOS DE FIV

Testámos 4 fatores de risco associados ao hospedeiro: sexo, comportamento, condição corporal e castração; e um fator de risco associado ao ambiente: estilo de vida.

A Tabela 23 reúne os resultados obtidos para FIV e no Anexo 7 disponibilizámos as tabelas de contingência de todas as variáveis testadas para uma consulta mais detalhada.

**Tabela 23:** Identificação de fatores de risco para FIV (n=90)

FATORES DE RISCO DE FIV INVESTIGADOS:	$\chi^2$	<i>p</i>	
Sexo	4,61	0,06	ns
Comportamento <sup>1</sup>	2,58	0,17	ns
Castração em machos	0,80	0,37	ns
Castração em fêmeas	1,05	0,31	ns
Estilo de vida <sup>2</sup>	0,73	0,39	ns

<sup>1</sup> - Gatos agressivos ou nervosos *versus* gatos amistosos. Avaliação da Candidata.

<sup>2</sup> - Gatos errantes, assilvestrados ou de proprietário mas com acesso ao exterior *versus* gatos sem contacto com o exterior.

ns - não significativo.

Constata-se que não foi possível evidenciar quaisquer associações estatísticas entre as características dos animais da amostra e a ocorrência de FIV. Estes dados serão integrados na discussão dos resultados no capítulo seguinte.

Procurámos também avaliar se existia alguma associação estatística entre a ocorrência de FIV e a observação de sinais clínicos nos gatos da amostra. A Tabela 24 reúne os resultados obtidos, cujas tabelas de contingências também foram inseridas no Anexo 7 para uma consulta pormenorizada.

Não foi possível evidenciar de novo quaisquer associações estatísticas entre os sinais clínicos observados e a ocorrência de FIV. Estes resultados serão integrados na discussão dos resultados no capítulo seguinte.

**Tabela 24:** Associação estatística entre os sinais clínicos observados na amostra de gatos e a ocorrência de FIV

SINAIS CLÍNICOS EM GATOS FIV POSITIVOS	$\chi^2$	<i>p</i>	
Condição corporal <sup>1</sup>	1,92	0,17	ns
Mucosas <sup>2</sup>	1,91	0,35	ns
Prostração	0,54	0,68	ns
Sinais respiratórios <sup>3</sup>	0,19	1,00	ns
Gengivo-estomatite	0,68	0,54	ns
Hipertrofia de linfonodos superficiais	2,61	0,11	ns
Presença de corrimentos <sup>4</sup>	0,70	0,50	ns
Presença de alterações oculares <sup>5</sup>	0,64	1,00	ns
Presença de feridas ou de mordeduras	0,18	0,67	ns

---

<sup>1</sup> Condição corporal: muito magro ou magro; avaliada segundo critério de Laflamme *et al.* (1997).

<sup>2</sup> Pálidas ou ictéricas.

<sup>3</sup> Alterações à auscultação ou dispneia.

<sup>4</sup> Nasais ou oculares

<sup>5</sup> Anisocoria, edema da córnea, depósitos celulares na camada interna da córnea, congestão dos vasos sanguíneos da esclera.

ns – não significativo

#### 4. DISCUSSÃO

As populações humanas, animais e vegetais das ilhas são muito aliciantes para os epidemiologistas pois coloca-se sempre a hipótese destas populações, tradicionalmente mais isoladas, terem frequências de contactos com agentes infecciosos muito inferiores às populações continentais, o que pode determinar, no melhor cenário possível que se mantenham livres de determinadas doenças. Por outro lado, um dos fatores que afeta a forma da curva epidémica é a proporção de animais suscetíveis que existem nessa população. Na ausência de notificações de doenças infecciosas e, de acordo com a perceção do risco dos médicos veterinários e a capacidade socioeconómica dos proprietários dos animais, pode optar-se por não realizar testes periódicos nem vacinar essas populações. É este cenário e esta atitude que estão instalados em São Miguel a propósito dos vírus FIV e FeLV na população felina. De facto: (i) não havia até aos resultados gerados por esta investigação nenhum artigo científico publicado que tivesse confirmado a presença destes vírus em São Miguel; (ii) nas suspeitas clínicas esporádicas destas doenças, sempre que os clínicos locais recorreram a testes laboratoriais de imunomigração rápida, obtiveram resultados negativos; (iii) por isso, e também devido a restrições económicas, a realização de testes rápidos para pesquisa de anticorpos específicos do FIV e de antígenos do FeLV não é feita durante as consultas pré-vacinação; (iv) a esmagadora maioria dos gatos não é vacinada contra o FeLV. Obviamente, a crise económica que vivemos atualmente em Portugal, condiciona muito o aval dos proprietários dos gatos à realização de testes e/ou à incorporação de mais vacinas no calendário de vacinação dos gatos, particularmente se recordarmos que a vacina recombinada contra o FeLV é a mais cara de todas as vacinas autorizadas para imunizar felídeos em Portugal.

Com base nestes factos podemos afirmar que a proporção de gatos residentes em São Miguel, suscetíveis aos vírus FIV e FeLV é muito grande, e que por isso, o risco de após a entrada destes vírus na ilha, ocorrer uma rápida disseminação nos gatos é elevada. Porém, devido à patogenia da infeção do FIV e do FeLV a exteriorização de sinais clínicos pode ser reduzida e contribuir para manter a ilusão das populações felinas estarem livres destas viroses.

Foi neste contexto epidemiológico e socioeconómico que se julgou oportuno fazer este estudo que apesar das limitações temporais (7 meses e meio de Estágio Curricular), de recursos humanos (1 estagiária com apoio de 1 auxiliar do CRO) e financeiros (verba disponível para testar até 90 gatos para FIV e para FeLV) se revelou suficiente para demonstrar a presença destes vírus na amostra de gatos investigada. De facto, a hipótese que pretendíamos testar neste trabalho, presença de FIV e de FeLV na população de gatos de São Miguel, foi comprovada.

A prevalência real de gatos infetados com FIV na amostra foi calculada em 14,2%. Este valor é superior à prevalência reportada por Duarte *et al.* (2010) numa amostra de gatos errantes da área metropolitana de Lisboa - 10,2% - mas devemos referir que o indicador calculado neste estudo é a prevalência aparente pois não foram feitos os ajustamentos aos valores de sensibilidade e de especificidade dos testes laboratoriais usados.

A prevalência real de gatos infetados com FeLV na amostra foi calculada em 0,6%. Este valor é muito inferior ao encontrado por Duarte *et al.* (2010) numa amostra de gatos errantes da área metropolitana de Lisboa: 7,1%. De novo não podemos fazer comparações diretas pois o indicador calculado por esta equipa de investigadores é a prevalência aparente.

Estes factos refutam a hipótese de a população de gatos de São Miguel ser uma população “fechada”, isto é, sem contactos com gatos de outras zonas do mundo ou apenas com contactos com gatos sãos ou vacinados contra estas viroses, o que à partida seria improvável num mundo globalizado, no qual o arquipélago dos Açores é um destino turístico afamado e sendo conhecida a infeção de gatos com FIV e com FeLV noutras ilhas do arquipélago como a Terceira, o Faial e o Pico, através de resultados positivos em testes de imunomigração rápida realizados por clínicos locais (informação divulgada pelo médico veterinário Luciano Costa da Clínica Veterinária de São Pedro de Angra do Heroísmo pelo sargento José Santos do SEPNA-GNR).

Com a facilidade que hoje existe no transporte de animais de companhia, começa a crescer o número de passageiros que viajam com o seu animal de estimação em voos intercontinentais e inter-ilhas. As principais pontes aéreas de entrada de felinos em São Miguel são múltiplas e lideradas pelas cidades onde há maiores comunidades de emigrantes açorianos: Oakland, Boston, Toronto, Montreal, Bermudas e Havai; além das ilhas da Madeira, Porto Santo e de Portugal continental.

Existem, em São Miguel, dois organismos responsáveis pelo controlo da entrada de animais vivos:

1. O Posto de Inspeção Fronteiriço (PIF), incumbido da realização dos controlos veterinários aos animais provenientes de três Países Terceiros (USA, Canadá e Bermudas). Em 2012, o PIF de Ponta Delgada registou a entrada de 15 gatos em “regime de férias” no aeroporto João Paulo II: 7 provenientes dos USA e 8 do Canadá. O registo de felídeos com São Miguel como destino final de permanência foi de 8 gatos: 4 provenientes dos USA e 4 do Canadá (informação amavelmente cedida pela Dra. Sofia Melo Pacheco da Divisão Veterinária do Serviço de Desenvolvimento Agrário de São Miguel). À entrada na ilha, o PIF verifica a documentação inerente à posse legal e à identificação do gato (passaporte+microchip+licença), a declaração de saúde, a vacinação anti-rábica e a análise serológica comprovativa de um título

de anticorpos protetor contra a raiva (informação cedida pela Dra. Sofia Melo Pacheco).

2. O Serviço de Proteção da Natureza e do Ambiente (SEPNA) - Guarda Nacional Republicana (GNR) na Região Autónoma dos Açores é a entidade que controla a entrada de todos os animais na região, provenientes de território nacional e internacional. Nos primeiros oito dias de 2014, já tinham entrado em São Miguel doze gatos: 11 provenientes de Lisboa e 1 da ilha da Madeira (dados amavelmente facultados pelo Sargento José Santos do SEPNA-GNR). Infelizmente, devido a uma falha informática no sistema informático do SEPNA-GNR em Ponta Delgada, não foi possível saber nem o número de gatos que entraram em São Miguel nos anos de 2013 e 2012, nem a sua origem geográfica.

O SEPNA exige apenas uma declaração de saúde emitida por um veterinário para autorizar a entrada de gatos em São Miguel provenientes de território nacional. Em relação aos felinos provenientes de território internacional, as exigências de controlo são idênticas às praticadas no PIF: documentação inerente à posse legal e à identificação do gato (passaporte+microchip+licença), declaração de saúde, vacinação anti-rábica e análise serológica comprovativa de um título de anticorpos protetor contra a raiva (informação cedida Sargento José Santos).

Além disso, durante o período de estudo, colaboradores da associação “Cantinho dos Animais”, sediada em Ponta Delgada, informaram-nos que enviam regularmente cães e gatos para famílias de acolhimento na Alemanha.

São, portanto, múltiplas e até intercontinentais, as possibilidades de entrada em São Miguel de gatos infetados com FIV ou FeLV na fase assintomática destas doenças, e de dispersão geográfica destes vírus em São Miguel e entre outras ilhas do arquipélago açoriano, Madeira, Portugal continental, outros países europeus e do subcontinente da América do Norte.

Não dispomos de informação que nos permita interpretar a diferença observada na magnitude das prevalências de FIV (14,2%) e de FeLV (0,6%) na amostra investigada.

Se compararmos os resultados obtidos neste estudo com as publicações que consultámos relativas à frequência de FIV e de FeLV em populações de gatos errantes ou assilvestrados de outras ilhas (Tabela 25), em que utilizaram a imunocromatografia rápida como teste de diagnóstico laboratorial, constatámos níveis de infeção elevados em São Miguel para FIV que só são superados na ilha de São Cristóvão nas Caraíbas e um baixo nível de FeLV, similar ao da população felina da ilha do Príncipe Eduardo no Canadá. As ilhas de São Miguel, Príncipe Eduardo e do Havai têm uma população humana similar, respetivamente, 133.816 (Associação Turismo dos Açores, 2014), 145.855 (The Government of Prince



Edward Island, 2012) e 175.784 habitantes (Hawaii Tourism Authority, 2014). Porém, a ilha de São Cristóvão nas Caraíbas tem apenas 51.134 habitantes (Worldatlas, 2014) e a ilha Isabela dos Galápagos cerca de 1.800 (Galapagos Conservancy, 2012). Se assumirmos que o tamanho da população humana reflete maior mobilidade haverá, conseqüentemente, maior probabilidade de entradas de gatos provenientes de outras zonas do globo. Este cenário agrava-se pois estas ilhas são destinos turísticos de excelência. No extremo oposto está a ilha Isabela dos Galápagos que é uma reserva de vida selvagem com acesso restrito e controlado de visitantes, e que por estas razões, está livre de FIV e de FeLV (Levy *et al.*, 2008b).

**Tabela 25:** Frequência de FIV e de FeLV em cinco ilhas

	São Miguel Açores Portugal	Ilha Príncipe Eduardo Canadá (Stojanovic & Foley, 2011)	Ilha de São Cristóvão Caraíbas (Kelly <i>et al.</i> , 2010)	Ilha Isabela Galápagos (Levy <i>et al.</i> , 2008b)	Ilha do Havai Havai (Danner <i>et al.</i> , 2007)
<b>n</b>	90	96	171	52	68
<b>Condição de vida</b>	E e A	A	E	D e A	A
<b>FIV</b>	14,2%	5,2%	14,6%	0%	9%
<b>FeLV</b>	0,6%	3,1%	0%	0%	16%

n - Número total da amostra

E - errantes

A - Assilvestrados

D - Donos

A elevada proporção de gatos com FIV detetada na nossa amostra (14,2%) pode resultar de os médicos veterinários não testarem por rotina para FIV os animais suspeitos e/ou capturados, e conseqüentemente, não imporem medidas que anulem ou mitiguem a probabilidade destes gatos infetarem outros, o que pode manter ciclos de transmissão intra e inter colónias.

Achados de reduzidas proporções de gatos infetados com FeLV têm sido associados ao isolamento geográfico dessas populações felinas, a resistência genética à infeção, à circulação de estirpes virais pouco virulentas e a diferenças comportamentais entre colónias de gatos (Kelly *et al.*, 2010). Nesta amostra só detetámos dois gatos infetados com FeLV (0,6%) que também estavam infetados com FIV. A elevada frequência de FIV na amostra, indicia comportamentos normais de defesa do território e de competição pelas fêmeas nos gatos errantes e assilvestrados. Só ensaios experimentais poderão, no futuro, caracterizar a virulência da(s) estirpe(s) de FeLV que circula(m) na ilha. Finalmente, o facto de termos excluído da amostra gatos com menos de 6 meses, pode ter influenciado o resultado obtido, uma vez que os gatinhos são mais suscetíveis ao FeLV do que os adultos (Lee *et al.*, 2002; Ford, 2011; Bande *et al.*, 2012), além de que podem ser infetados por via transplacentária

ou logo no pós-parto pelos cuidados de higiene da progenitora (Cotter, 1998, citado por Danner *et al.*, 2007; Scherk *et al.*, 2013b). Adicionalmente, a esperança de vida dos gatos FeLV positivos é inferior à dos gatos FIV positivos (Kim, 2011) e essa taxa acrescida de remoção da população pode contribuir para num estudo transversal como o que realizámos, termos subestimado a frequência da infeção por FeLV.

A frequência muito reduzida de gatos infetados com FeLV (0,6%) permite conjecturar que uma implementação eficaz de medidas de prevenção como a vacinação, a eutanásia ou o isolamento permanente dos gatos FeLV positivos em famílias de acolhimento, e a imposição da realização de testes rápidos ou no país de origem ou durante os controlos da entrada de gatos na ilha, poderia erradicar o FeLV de São Miguel. De facto, uma das medidas a considerar teria que ser a eutanásia dos gatos infetados com FeLV, o que exigiria uma campanha de informação junto dos micalenses, inclusiva das associações protetoras dos animais. Por exemplo, Stojanovic & Foley (2011) justificam a diminuição da prevalência de FIV e de FeLV na população de gatos assilvestrados da ilha de Príncipe Eduardo no Canadá devido à implementação de medidas de controlo como as acima referidas.

Está descrito na bibliografia que gatos FIV positivos, do sexo masculino, de vida livre ou semilivre têm um risco mais elevado de contrair FeLV (Gleich *et al.*, 2009; Sykes & Hartmann, 2013). Também é referido que gatos infetados por FeLV têm uma probabilidade de serem FIV positivos quatro vezes maior que os gatos negativos à infeção por FeLV (Gibson, Keizer & Golding, 2002). Estas observações poderão ajudar a entender o cenário singular de na amostra investigada apenas termos detetado dois gatos com FeLV, ambos machos de vida livre e também infetados com FIV,

Não comprovámos nenhuma associação estatística entre a ocorrência de gatos infetados por FIV e as características intrínsecas e extrínsecas que poderiam ser fatores ou comportamentos de risco, muito provavelmente devido ao reduzido tamanho da amostra. No entanto, queremos salientar que os machos apresentaram maior frequência de infeção pelo FIV (20,4%) do que as fêmeas (4,8%), cenário que é concordante com várias publicações (Fromont *et al.*, 1997; Lee *et al.*, 2002; Levy *et al.*, 2006; Gleich *et al.*, 2009; Stojanovic & Foley, 2011; Sellon & Hartmann, 2012).

Outra característica intrínseca associada ao hospedeiro na qual não foi possível evidenciar associação estatística foi os animais inteiros estarem mais predispostos a contrair estas viroses. Todavia, se a amostra fosse maior e estratificada por género, poderíamos ter chegado a resultados similares aos reportados por Courchamp *et al.* (1989) e pelo ABCD (2012a).

O mesmo sucedeu relativamente à variável “estilo de vida” pois está descrita uma maior probabilidade da infeção em gatos com hábitos de vida livre, errantes e assilvestrados, pois

trocam mais agressões/mordeduras para defesa do território e competição por fêmeas em cio (Fromont *et al.*, 1997; Courchamp *et al.*, 1998; Lee *et al.*, 2002; Gleich *et al.*, 2009). Esta ausência de associação estatística entre o “estilo de vida” dos gatos e a ocorrência de FIV pode resultar do viés de termos investigado muito poucos gatos sem contactos com o exterior (n=4).

No presente estudo, os gatos que classificámos com comportamento agressivo ou nervoso apresentaram uma maior frequência de infeção por FIV (17,5%) do que os gatos amistosos (4%) (Anexo 7). Esta tendência foi descrita por Bande *et al.* (2012) que demonstraram que os gatos agressivos têm cerca de duas vezes mais probabilidade de adquirirem infeção por FIV do que os gatos amistosos.

Numa perspetiva clínica quisemos perceber se os gatos infetados com FIV tendiam a exhibir alguns sinais clínicos que pudéssemos partilhar com os médicos veterinários, de modo a ajudá-los a estabelecer uma suspeita clínica de FIV, que lhes permitisse fazer um uso seletivo dos testes complementares de diagnóstico, nomeadamente de imunomigração rápida durante a consulta.

No presente estudo os gatos infetados com FIV exibiram uma maior frequência de linfonodos superficiais hipertrofiados do que os gatos sãos: 22,2% (Anexo 7). Os linfonodos superficiais mais atingidos foram os mandibulares. Está descrito na literatura que os gatos com FIV podem apresentar linfonodos hipertrofiados na fase aguda ou terminal da infecção (Dunham & Graham, 2008; Hosie *et al.*, 2009; Grace, 2011; Duarte *et al.*, 2012; Sykes, 2013).

A gengivo-estomatite foi o sinal clínico mais frequente na amostra investigada: 50 em 90 gatos (55,6%). Este indicador subiu para 66,7% nos gatos infetados com FIV (Anexo 7). De facto, a gengivo-estomatite crónica felina é a síndrome que muitos autores reportam como a mais frequente nos gatos FIV positivos (Hosie *et al.*, 2009; Grace, 2011; Hartmann, 2011; ABCD, 2012a) e os nossos resultados corroboram esta tendência.

Tendo em conta os resultados que obtivemos, consideramos que é urgente a implementação de medidas de controlo e de prevenção destes retrovírus felinos na ilha de São Miguel, pelo menos numa lógica temporal em que em fases sucessivas se alargaria o programa às outras ilhas do arquipélago, depois da realização de estudos epidemiológicos iniciais que permitissem conhecer a prevalência do FIV e do FeLV nas nove ilhas açorianas. É necessário difundir os nossos resultados e sensibilizar os médicos veterinários que lidam com animais de companhia para a importância da realização de testes de diagnóstico e da vacinação contra o FeLV, pelo menos nos gatos de risco elevado.

É prioritário realizar campanhas de sensibilização dirigidas aos proprietários dos felídeos, aos benfeitores das colónias de gatos e às associações de abrigo, de modo a melhorar a sua perceção do risco colocado pelo FIV e pelo FeLV e da relevância da realização de

testes pré-adoção e pré-vacinação contra o FeLV, e da necessidade de admitir o recurso à eutanásia de gatos FIV positivos e FeLV positivos em cenários de gestão complexa como colónias de gatos errantes ou assilvestrados com prevalências elevadas de FIV.

Nos gatis municipais todos os gatos que derem entrada nas instalações devem ser microchipados, desparasitados, testados para FIV e para FeLV, separados em divisões distintas consoante o seu estado (não infetado ou infetado) e, idealmente, alojados em gaiolas individuais. Todos os gatos que testem negativo para FeLV devem ser vacinados contra esta doença, podendo os custos da vacina ser cobrados aos futuros proprietários no momento da adoção. Os gatos FIV positivos ou FeLV positivos que exibam sinais clínicos devem ser eutanasiados (Gibson *et al.*, 2002).

Apesar de a imunodeficiência felina e a leucemia felina não serem zoonoses, o facto de induzirem imunossupressão, cria um potencial problema de Saúde Pública Veterinária pois os gatos infetados tendem a contrair outras doenças infecciosas e parasitárias, algumas delas zoonoses, como a toxoplasmose, a bartonelose, a toxocarose ou as dermatofitoses. Todos os agentes que venham a ser envolvidos numa estratégia concertada de controlo do FIV e do FeLV em São Miguel devem estar cientes deste risco e contribuir para o mitigar.



## CAPÍTULO IV - CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Esta é a primeira publicação científica que reporta a presença de gatos infetados com FIV e com FeLV na ilha de São Miguel, arquipélago dos Açores.

A divulgação destes resultados irá alertar os médicos veterinários que lidam com animais de companhia na ilha para a necessidade de incorporar a realização de testes rápidos de imunocromatografia nas consultas pré-vacinação e em todos os casos de suspeita clínica destas doenças, com o intuito de identificar e segregar ou eutanasiar os gatos FIV positivos e os gatos FeLV positivos, e de vacinar os gatos que pertençam a grupos de risco elevado.

Quanto à gestão das populações de gatos errantes e assilvestrados, além da estratégia em vigor de captura, colocação de microchip e esterilização, os responsáveis dos gatis municipais e das associações de abrigo devem ser aconselhados e assessorados na implementação de medidas específicas de mitigação do risco da Imunodeficiência Felina e da Leucemia Felina como a testagem dos gatos durante o período de quarentena com testes de imunocromatografia rápida, com a subsequente eutanásia dos gatos infetados ou a identificação indelével destes gatos seguida do seu isolamento em lotes de animais mantidos em salas exclusivamente destinadas a esse fim, e separados das salas onde são albergados os gatos são destinados à adoção por barreiras físicas e escrupulosas medidas higio-sanitárias.

É crucial envolver os médicos veterinários do PIF de Ponta Delgada e a equipa do SEPNA no desenho e na execução de uma estratégia concertada pois o esforço insular, público e privado, de controlo da Imunodeficiência Felina e da Leucemia Felina pode ser anulado pela entrada de gatos assintomáticos, mas infetados com FIV ou FeLV, provenientes de outras zonas do globo. A ausência desta dinâmica pode resultar na entrada de novos subtipos destes vírus em território micalense. A verificação de atestados de saúde suportados por resultados negativos em testes de diagnóstico laboratorial para FIV e para FeLV e de calendários vacinais contra FeLV são medidas críticas que poderão impedir a entrada de gatos infetados na ilha.

Só uma eficaz combinação destas medidas poderá reduzir a médio prazo a incidência de FIV e de FeLV.

Depois de demonstrada a presença de gatos infetados com Imunodeficiência Felina e com Leucemia Felina na ilha de São Miguel, urge realizar um estudo epidemiológico que permita quantificar a prevalência destas viroses e mapear a sua distribuição geográfica.

Posteriormente, e na posse destes elementos, há que desenhar e implementar um programa de controlo do FIV e do FeLV. Todos os parceiros do programa devem ser envolvidos na discussão desde a fase inicial de definição dos objetivos do programa na sua discussão. Experiências de sucesso de programas de controlo implementadas noutras ilhas

para reduzir a incidência de FIV e de FeLV devem servir de motivação e de inspiração (Gibson *et al.*, 2002; Stojanovic & Foley, 2011).

É necessário antecipar que com o aumento do número de testes de imunocromatografia rápida irão surgir resultados duvidosos que exigem para o seu esclarecimento a realização de provas de diagnóstico complementar mais sofisticadas como a PCR ou o RT-qPCR. Será portanto necessário salvaguardar apoio laboratorial especializado.

Ainda na linha do diagnóstico laboratorial seria muito interessante identificar quais os subtipos de vírus FIV e FeLV que estão presentes nas amostras dos 12 gatos positivos a FIV e dos 2 gatos positivos a FeLV na nossa amostra e fazer análises filogenéticas que ajudem a esclarecer quais as potenciais origens dos vírus FIV e FeLV que circulam atualmente na ilha.

## BIBLIOGRAFIA

- Associação Animais de Rua (2010). *Associação animais de rua esterilização e proteção de animais em risco*. Acedido em Dez 11, 2013, disponível em: <http://www.animaisderua.org/>.
- Associação Turismo dos Açores, [ATA] (2014). *São Miguel*. Acedido em Março 7, 2014, disponível em: <http://www.visitazores.com/pt-pt/the-azores/the-9-islands/sao-miguel/fundamental-facts>.
- Bande, F., Arshad, a. A., Hassan, L., Zakaria, Z., Sopian, N. A., Rahman, N. A., & Alazawy A. (2012). Prevalence and risk factors of feline leukaemia virus and feline immunodeficiency virus in peninsular Malaysia. *BMC Veterinary Research*, 8.
- Bandecchi, P., Matteucci, D., Baldinotti, F., Guidi, G., Abramo, F., Tozzini, F., & Bendinelli, M. (1992). Prevalence of feline immunodeficiency virus and other retroviral infections in sick cats in Italy. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 31, 337 – 345.
- Baneth, G., Kass, P. H., Steinfeld, D., & Besser, M. (1999). A seroepidemiological study of feline coronavirus, feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus among cats in Israel. *Israel Journal Of Veterinary Medicine*, 54.
- Barr, M. C., & Phillips, T. R. (2008). *VIF e doença relacionada*. In S. J. Ettinger & E.C. Feldman, *Tratado de medicina interna veterinária: doenças do cão e do gato*, (5ªed.). (pp. 456 – 461). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A.
- Câmara Municipal de Ponta Delgada (2013). *Município de Ponta Delgada*. Acedido em Dezembro 11, 2013, disponível em <http://cm-pontadelgada.azoresdigital.pt>.
- Clair, L. F. S. (1986). Sistema digestivo do carnívoro. In R. Getty, Sisson e Grossman Anatomia dos Animais Domésticos (5ª ed.). (pp. 1445 – 1464). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A.
- Costa, F. V. A. & Norsworthy, G. (2011). Feline leukemia virus diseases. In G. D. Norsworthy, M. A. Crystal, S. F. Grace, L. P. Tilley (Eds.), *The Feline Patient* (4<sup>th</sup> ed.). (pp. 184 – 186). Iowa, USA: Blackwell Science Ltd
- Courchamp, F., Yoccoz, N. G., Artois, M. & Pontier D. (1998). At risk individual in feline immunodeficiency virus epidemiologic: evidence from a multivariate approach in a natural population of domestic cats (*Felis catus*). *Epidemiol. Infect.*, 121, 227 – 236.
- Daniels, M. J., Golder, M. C., Jarrett, O. & MacDonald, D. W. (1999). Feline viruses in wildcats from Scotland. *Journal of Wildlife Diseases*, 35, 121 – 124.
- Danner, R. M., Goltz, D. M., Hess, S. C., & Banko, P. C. (2007). Evidence of feline immunodeficiency virus, feline leukemia virus and *Toxoplasma gondii* in feral cats on Mauna Kea, Hawaii. *Journal of Wildlife Diseases*, 43, 315 – 318.
- Decreto-Lei n.º 314/2003 de 17 de Dezembro. *Diário da República nº209 – I Série-A*.
- Doménech, A., Miró, G., Collado, V., Ballesteros, N., Sanjosé, L., Escolar, E., Martín, S. & Gomez-Lucia, E. (2011). Use of recombinante interferon ómega in feline retrovirois: from theory to practice. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 143, 301 – 306.
- Duarte, A., & Tavares, L. (2006). Phylogenic analysis of Portuguese feline immunodeficiency virus sequences reveals high genetic diversity. *Veterinary Microbiology*, 114, 25 – 33.



- Duarte, A., Castro, I., Fonseca, I. M. P., Almeida, V., Carvalho, L. M. M., Meireles, J., Fazendeiro, M. I., Tavares, L., & Vaz, Y. (2010). Survey of infectious and parasitic diseases in stray cats at the Lisbon metropolitan area, Portugal. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12, 441 – 446.
- Duarte, A., Gil, S., Leal, R., & Tavares, L. (2012). Vírus da imunodeficiência felina (VIF): da etiologia às novas abordagens terapêuticas. *Medicina Veterinária*, 66, 37-43.
- Dunham, S. P., & Graham, E. (2008). Retroviral infections of small animals. *Veterinary Clinics Small Animal*, 38, 879-901.
- Elder, J. H., Lin, Y. C., Fink, E., & Grant, C.K. (2010). Feline Immunodeficiency virus (FIV) as a model for study of lentivirus infections: Parallels with HIV. *Curr HIV Res.*, 8, 73-80.
- European Advisory Board on Cat Diseases [ABCD] (2012a). *Guidelines: Feline Immunodeficiency*. Acedido em Outubro 21, 2013 em: <http://www.abcd-vets.org/Guidelines/Pages/en-1201-Feline-Immunodeficiency.aspx>.
- European Advisory Board on Cat Diseases [ABCD] (2012b). *Guidelines: Feline Leukaemia*. Acedido em Novembro 20, 2013 em: <http://www.abcd-vets.org/Guidelines/Pages/en-1201-Feline-Leukaemia.aspx>
- European Advisory Board on Cat Diseases [ABCD] (2012c). *Guidelines: Prevention of Infectious Diseases in Cat Shelters*. Acedido em Outubro 22, 2013 em: <http://www.abcd-vets.org/Guidelines/Pages/EN-Prevention-of-Infectious-Diseases-in-Cat-Shelters.aspx>
- Freguesia do Livramento (2009). *Localização*. Acedido em Dezembro 11, 2013, disponível em <http://livramento.no.sapo.pt/>.
- Ford, R. B. (2011). FeLV and FIV: Testing...Diagnosing...Preventing. In IVIS, *Proceeding of the Latin American Veterinary Conference, Oct. 24 – 26, 2011*. Lima, Peru.
- Fromont, E., Courchamp, F., Artois, M., & Pontier, D. (1997). Infection strategies of retroviruses and social grouping of domestic cats. *Can. J. Zool.*, 75, 1994 – 2000.
- Galapagos Conservancy (2012). *The Galapagos islands: Isabela*. Acedido em Março 7, 2014, disponível em [http://www.galapagos.org/about\\_galapagos/isabela/](http://www.galapagos.org/about_galapagos/isabela/).
- Gallo, D., Diggs, J. L., Shell, G. R., Dailey, P. J., Hoffman, M. N. & Riggs, J. L. (1986). Comparison of detection of antibody to the acquired immune deficiency syndrome virus by enzyme immunoassay, immunofluorescence, and Western blot methods. *J. Clin.Microbiol.*, 23, 1049 – 1051.
- Gibson, K. L.; Keizer, K., & Golding, C. (2002). A trap, neuter, and release program for feral cats on Prince Edward Island. *Can Vet J*, 43, 695 – 698.
- Gil, S. & Leal, R. (2012). FIV: O vírus da imunodeficiência felina. *Jornal Saúde Notícias*, Out. 2012, p.14.
- Gil, S., Leal, R., Duarte, A., McGahie, D., Sepúlveda, N., Siborro, I., Cravo, J., Cartaxeiro, C. & Tavares, L. (2013). Relevance of feline interferon omega for clinical improvement and reduction of concurrent viral excretion in retrovirus infected cats from a rescue shelter. *Research in Veterinary Science*, 94, 753 – 763.

- Gil, S., Leal, R. O., McGahie, D., Sepúlveda, N., Duarte, A., Niza, M. M. R. E., & Tavares, L. (2014). Oral recombinant feline interferon-omega as an alternative immune modulation therapy in FIV positive cats: clinical and laboratory evaluation. *Research in Veterinary Science* 96, 79 – 85.
- Gleich, S. E., Krieger, S., & Hartmann, K. (2009). Prevalence of feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus among client-owned cats and risk factors for infection in Germany. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 985 – 992.
- Grace, S. F. (2011). Feline immunodeficiency virus infection. In G. D. Norsworthy, M. A. Crystal, S. F. Grace, L. P. Tilley (Eds.), *The Feline Patient* (4<sup>th</sup> ed.). (pp. 179 – 180). Iowa, USA: Blackwell Science Ltd.
- Gruffydd-Jones, T. (2009). Update on testing for feline retroviruses. In IVIS, *Proceedings of the 34<sup>th</sup> World Small Animal Veterinary Congress WSAVA 2009*. São Paulo, Brasil.
- Grupo SATA (2013). *Rotas*. Acedido em Março 7, 2014 em: <http://sata.pt/pt-pt/sata/rotas>.
- Hartmann, K., Griessmayr, P., Schulz, B., Greene, G. E., Vidyashankar, A. N., Jarret, O. & Egberink, H. F. (2007). Quality of different in-clinic test systems for feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus infection. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 9, 439 – 445.
- Hartmann, K. (2011). Clinical aspects of feline immunodeficiency and feline leukemia virus infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 143, 190-201.
- Hartmann, K. (2012). Feline leukemia virus infection. In C.E. Greene (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*. (4<sup>th</sup> ed.). (pp.108 - 136). United States of America: Elsevier.
- Hawaii Tourism Authority (2014). *Hawaii island quick facts*. Acedido em Março 7, 2014 em: <http://www.gohawaii.com/big-island/about/quick-facts>.
- Hayward, J. J., Taylor, J., & Rodrigo, A. G. (2007). Phylogenetic analysis of feline immunodeficiency virus in feral and companion domestic cats of New Zealand. *Journal of Virology*, p. 2999 – 3004.
- Hayward, J. J., & Rodrigo, A. G. (2010). Molecular epidemiology of feline immunodeficiency virus in the domestic cat (*Felis catus*). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 134, 68 – 74.
- Hosie, M. J., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hartmann, K., Lloret, A., Lutz, H., Marsilio, F., Pennisi, M. G., Radford, A. D., Thiry, E., Truyen, U., & Horzinek, M. C. (2009). Feline immunodeficiency: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 575 – 584.
- International Committee on Taxonomy of Viruses [ICTV], (2012). *Virus Taxonomy: 2012 release*. Acedido em Fevereiro 24, 2014 em: [http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?msl\\_id=27](http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?msl_id=27).
- Jacobson, R. H. (1991). How well do serodiagnostic tests predict the infection or disease status of cats?. *JAVMA*, 10, 1343 – 1347.

- Kelly, P. J., Moura, L., Miller, T., Thurk, J., Perreault, N., Weil, A., Maggio, R., Lucas, H., & Breitschwerdt, E. (2010). Feline immunodeficiency virus, feline leukemia virus and *Bartonella* species in stray cats on St. Kitts, West Indies. *J. Feline Med. Surg.* 12, 447 – 450.
- Kim, D. Y. (2011). Common causes of death in cats. In IVIS, *Proceedings of the 36<sup>th</sup> World Small Animal Veterinary Congress WSAVA, 14-17 October 2011*, pp. 228 – 230. Jeju, Coreia.
- Laflamme, D. P. (1997). Development and validation of a body condition score system for cats: a clinical tool. *Feline Practice.* 25, 13 – 18.
- Lappin, M. R. (2006). Doenças Infecciosas. In R. W. Nelson & C. G. Couto, *Medicina interna de pequenos animais*. (3<sup>a</sup> edição). (pp.1193 – 1202; 1213 – 1219; 1240 – 1246). Rio de Janeiro: Elsevier.
- Lee, I. T., Levy, J. K., Gordman, S. P., Crawford, P. C., & Slater, M. R. (2002). Prevalence of feline leukemia virus infection and serum antibodies against feline immunodeficiency virus in unowned free-roaming cats. *JAVMA*, 220, 620 – 622.
- Levy, J. K., Scott, H. M., Lachtara, J. L. & Crawford, P. C. (2006). Seroprevalence of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infection among cats in North America and risk factors for seropositivity. *JVMA*, 228, 371 – 376.
- Levy, J., Crawford, C., Hartmann, K., Hofmann-Lehmann, R., Little, S., Sundahl, E. & Thayer V. (2008a). American association of feline Practitioners feline retrovirus management guidelines. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10, 300 – 316.
- Levy, J. K., Crawford, P. C., Lappin, M. R., Dubovi, E. J., Levy, M.G., Alleman, R., Tucker, S. J. & Clifford, E. L. (2008b). Infectious diseases of dogs and cats on Isabela Island, Galapagos. *J. Vet. Intern. Med.*, 22, 60 – 65.
- Little, S., Bienzle, D., Carioto, L., Chisholm, H., O'Brien, E., & Scherk, M. (2011). Feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus in Canada: recommendations for testing and management. *Can. Vet. J.*, 52, 849 – 855.
- Lutz, H., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hartmann, K., Hosie, M. J., Lloret, A., Marsilio, F., Pennisi, M. G., Radford, A. D., Thiry, E., Truyen, U. & Horzinek, M. C. (2009). Feline leukaemia ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 565 – 574.
- MacLachlan, N. J. & Dubovi, E. J. (2011). *Fenner's Veterinary Virology*. (4<sup>th</sup> ed.). San Diego: Elsevier.
- Mahony, J., Rosenthal, K., Chernesky, M., Castriciano, S., Scheid, E., Blajchman, M., & Harnish, D. (1989). Agreement study between two laboratories of immunofluorescence as a confirmatory test for human immunodeficiency virus type 1 Antibody Screening. *Journal of Clinical Microbiology*, 27, 1234-1237
- McOrist, S. (1992). Diseases of the European wildcat (*Felis silvestris* Schreber, 1777) in Great Britain. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 11, 1143 – 1149.
- Millán, J., & Rodríguez, A. (2009). A serological survey of common feline pathogens in free-living European wildcats (*Felis silvestris*) in central Spain. *Eur J Wildl Res*, 55, 285 – 291.

- Miyazawa, T., Tomonaga, K., Kawaguchi, Y., & Mikami, T. (1994). The genome of feline immunodeficiency virus. *Archives of Virology*, 134, 221 – 234.
- Niza, M. M. R. E., Mestrinho, L. A., & Vilela C. L. (2004). Gengivo-estomatite crónica felina – um desafio clínico. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 99, 127 – 135.
- O'Keefe, E. P. (2013). Nucleic acid delivery: Lentiviral and retroviral vectors. Acedido em Outubro 6, 2013, em: <http://www.labome.com/method/Nucleic-Acid-Delivery-Lentiviral-and-Retroviral-Vectors.html>.
- Pedersen, N. C., Ho, E. W., Brown, M. L. & Yamamoto, J. K. (1987). Isolation of a T-lymphotropic virus from domestic cats with an immunodeficiency-like syndrome [abstract]. *Science* 235, 790 – 793.
- Presidência do Governo dos Açores (2014). *Emigração açoriana*. Acedido em Março 7, 2014, em: <http://www.azores.gov.pt/Portal/pt/entidades/pgra-ssrpre-drcomunidades/textolmagem/Emigra%C3%A7ao+A%C3%A7oriana.htm>.
- Scherk, M. A., Ford, R. B., Gaskell, R. M., Hartmann, K., Hurley, K. F., Lappin, M. R., Levy, J. K., Little, S. E., Nordone, S. K., & Sparkes, A. H. (2013a). Disease information fact sheet: feline immunodeficiency virus. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15.
- Scherk, M. A., Ford, R. B., Gaskell, R. M., Hartmann, K., Hurley, K. F., Lappin, M. R., Levy, J. K., Little, S. E., Nordone, S. K., & Sparkes, A. H. (2013b). Disease information fact sheet: feline leukemia virus. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15.
- Scherk, M. A., Ford, R. B., Gaskell, R. M., Hartmann, K., Hurley, K. F., Lappin, M. R., Levy, J. K., Little, S. E., Nordone, S. K., & Sparkes, A. H. (2014). 2013 AAEP Feline vaccination advisory panel report. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 16, 66.
- Sellon, R. K., & Hartmann, K. (2012). Feline immunodeficiency virus infection. In C.E. Greene (ed.) *Infectious diseases of the dog and cat*. (4<sup>th</sup> ed.). (pp.136 - 149). United States of America: Elsevier.
- Sociedade de Empreendimentos Avícolas e de frio, Lda. (2012). *AVIGEX*. Acedido em Dez. 11, 2013, disponível em: <http://avigex.financor.pt/>.
- Sykes, J. E. (2013). Feline immunodeficiency virus infection. In J. E. Sykes (ed.) *Canine and Feline Infectious Diseases*. (1<sup>rd</sup> ed.). (pp. 209 – 223). Missouri: Elsevier.
- Sykes, J. E. & Hartmann, K. (2013). Feline leukemia virus infection. In J. E. Sykes (ed.) *Canine and Feline Infectious Diseases*. (1<sup>rd</sup> ed.). (pp. 224 – 238). Missouri: Elsevier.
- Synbiotics Corporation (2013). *ViracheK<sup>®</sup>/FeLV*. Acedido em Dezembro 9, 2013, em: [http://www.synbiotics.com/Products/CompanionAnimals/Feline/ViraCHEK-FeLV\\_Kilo.html](http://www.synbiotics.com/Products/CompanionAnimals/Feline/ViraCHEK-FeLV_Kilo.html).
- Synbiotics Corporation (2013). *ViracheK<sup>®</sup> FIV*. Acedido em Dezembro 9, 2013 em: <http://www.synbiotics.com/Products/CompanionAnimals/Feline/ViraCHEK-FIV.html>.
- Steinrigl, A., Ertl, R., Langbein, I., & Klein, D. (2010). Phylogenetic analysis suggests independent introduction of feline immunodeficiency virus clades A and B to Central Europe and identifies diverse variants of clade B. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 134, 82 – 89.
- Stojanovic, V. & Foley, P. (2011). Infectious disease prevalence in feral cat population on Prince Edward Island, Canada. *Can Vet J*, 52, 979 – 982.

- The Government of Prince Edward Island (2012). *Island Information*. Acedido em Março 7, 2014 disponível em: <http://www.gov.pe.ca/infopei/index.php3?number=13033&lang=E>
- Turismo de Portugal (2013). *O turismo em ....* Acedido em Março 7, 2014 disponível em: <http://www.turismodeportugal.pt/Portugu%C3%AAs/ProTurismo/estat%C3%ADsticas/an%C3%A1lisesestat%C3%ADsticas/oturismoem/Pages/OTurismoem.aspx>.
- VassarStats (2013). *Website for Statistical Computation*. Acedido em Fev. 27, 2014, disponível em: <http://vassarstats.net/>.
- WinEpi (2006). *Working in Epidemiology*. Acedido em Março 31, 2014, disponível em: <http://www.winepi.net/>.
- Wordatlas (2014). Acedido em Março, 7, 2014, disponível em: <http://www.worldatlas.com/webimage/countrys/namerica/caribb/stkittsandnevis/knfacts.htm>.
- World Health Organization [WHO] (1990). Guidelines for dog population management. Acedido em Dezembro 11, 2013, disponível em: <http://apps.who.int/iris/simple-search?query=Guidelines+for+dog+population+management&submit=Go>
- World Organization for Animal Health [OIE] (2013). *Terrestrial animal health code: stray dog population control*. Acedido em Dezembro 11, 2013 em: [http://www.oie.int/index.php?id=169 &L=0&htmfile=chapitre\\_1.7.7.htm](http://www.oie.int/index.php?id=169 &L=0&htmfile=chapitre_1.7.7.htm).
- Yamamoto, J. K., Hansen, H., Ho, E. W., Morishita, T. Y., Okuda, T., Sawa, T. R., Nakamura, R. M. & Pedersen N. C. (1989). Epidemiologic and clinical aspects of feline immunodeficiency virus infection in cats from the continental United States and Canada and possible mode of transmission. *JAVMA*, 194, 213 – 220.

# **ANEXOS**

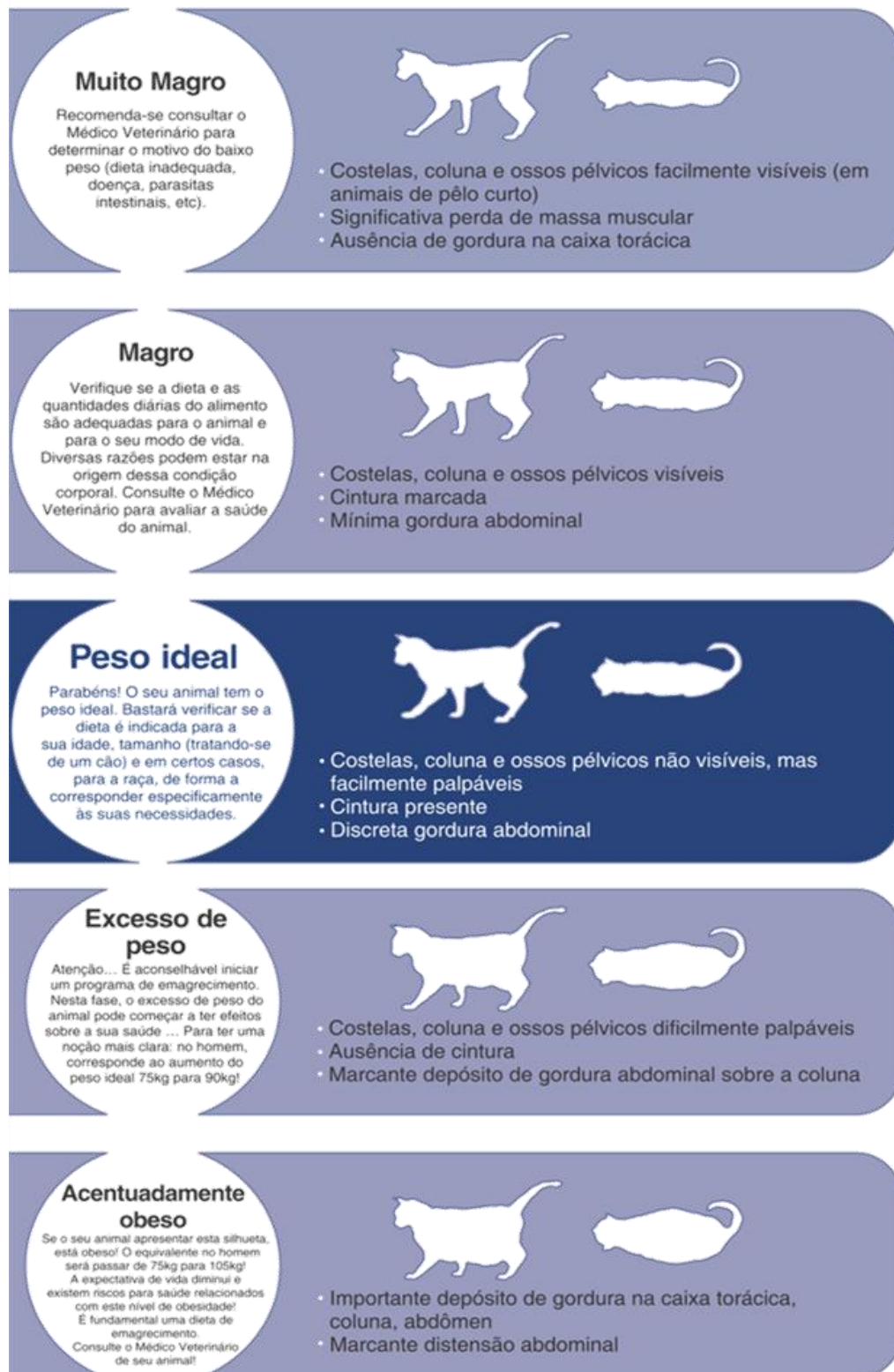
**Anexo 1:** Tabela com a prevalência de FIV e FeLV em felinos de diferentes países, Gleich *et al.* (2009).

**Table 1.** Prevalences of FIV and FeLV recorded in domestic cats in different countries

Country	Status of cats	<i>n</i>	FIV+	FeLV+	FIV+ & FeLV+	Reference
USA and Canada	High-risk	2254	14%			Yamamoto et al. <sup>46</sup>
	Low-risk	511	1.2%			
USA	Free-roaming	1876	3.5%	4.3%		Lee et al. <sup>3</sup>
USA	Feral	553	5.2%	3.3%		Luria et al. <sup>16</sup>
USA	Random	18038	2.5%	2.3%	0.3%	Levy et al. <sup>2</sup>
Prince Edward Islands	Feral	185	5.9%	4.8%	1.6%	Gibson et al. <sup>47</sup>
UK	Healthy	1007	6%	5%		Hosie et al. <sup>7</sup>
	Sick	1204	19%	18%		
UK	Stray	517	10.4%	3.5%		Muirden. <sup>14</sup>
Finland	Free-roaming	196	6.6%	1.0%		Sukura et al. <sup>48</sup>
Norway	Healthy	224	5.9%	1.2%		Ueland and Lutz. <sup>31</sup>
	Sick		10.1%	2.2%		
Belgium	Stray	346	11.3%	3.8%		Dorny et al. <sup>21</sup>
Germany	Healthy + sick	5129	2.3%			Hartmann and Hinze. <sup>8</sup>
Germany	Healthy + sick	6101	8.4%	13.4%	2.1%	Fuchs et al. <sup>18</sup>
Germany	Necropsy	255	6%			Holznagel et al. <sup>19</sup>
Czech Republic	Healthy + sick	727	5.8%	13.2%	0.96%	Knotek et al. <sup>49</sup>
Switzerland	Healthy	561	0.7%	3%		Lutz et al. <sup>11</sup>
	Sick	860	3.4%	13%		
Italy	Random	439	12.5%			Peri et al. <sup>50</sup>
Italy	Sick	277	24%	18%		Bandecchi et al. <sup>51</sup>
Italy	Healthy	203	11.3%	8.4%	1%	Bandecchi et al. <sup>10</sup>
Spain	Healthy	180	8.3%	15.6%	1.1%	Arjona et al. <sup>9</sup>
	Sick	115	13.8%	30.4%	2.6%	
Turkey	Random	103	22.3%	5.8%		Yilmaz et al. <sup>20</sup>
Israel	Sick	37	22%			Harrus et al. <sup>17</sup>
		34		38%		
Japan	Healthy + sick	3,323	28.9%			Ishida et al. <sup>52</sup>
Japan	Healthy	1088	9.8%	2.9%		Maruyama et al. <sup>15</sup>
Vietnam	Healthy	69	0%	0%	0%	Miyazawa et al. <sup>5</sup>
Vietnam	Free-roaming	54	22%	0%		Nakamura et al. <sup>6</sup>
Taiwan	Healthy + sick	117	2.6%	6%		Lin et al. <sup>53</sup>
Taiwan	Stray	75	4%	1.3%		Lin et al. <sup>54</sup>
Taiwan	Unknown	32	21.9%			Uema et al. <sup>55</sup>
Australia	Healthy	200	7.5%	2%		Malik et al. <sup>56</sup>
Australia	Domestic	389	10%			Winkler et al. <sup>57</sup>
	Feral	66	9%			
Australia	Sick	101	50%			Gabor et al. <sup>12</sup>
Australia	Sick	107		2%		Gabor et al. <sup>58</sup>

*n* = number of cats included in the study; FIV+ = percentage of FIV-infected cats, FeLV+ = percentage of FeLV-infected cats; FIV & FeLV+ = percentage of co-infected cats.

**Anexo 2:** Escala disponibilizada pela Royal Canin para Avaliação da condição corporal no gato baseada no trabalho de Laflamme *et al.*, 1997.





**Anexo 3:** Ficha de Identificação elaborada pela Candidata.

**Faculdade de Medicina Veterinária**  
**Universidade de Lisboa**

## Ficha para recolha de dados

## Identificação do Proprietário

Nome: \_\_\_\_\_

Morada:

Telephone: \_\_\_\_\_

## Identificação do Animal

Número da amostra: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

Raça: \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_

Sexo:	F	M	FC	MC
-------	---	---	----	----

Caráter: Amistoso Nervoso Agressivo

Peso:

## História Pgressa

ORIGEM: Apanhado na rua  
Gatil  
Criador

ACTIVIDADE: Muito ativo  
Ativo  
Pouco ativo

AMBIENTE: Casa  
Rua  
Misto  
Gatil

DESPARASITAÇÃO: Interna \_\_\_\_\_  
Externa \_\_\_\_\_  
Última desparasitação \_\_\_\_\_

CONVIVIO: Cães  
Gatos

VACINAÇÃO:    Sim       Não  
Última vacinação

DIETA:    Húmida    Seca    Mista    Caseira    Humana

DOENÇAS DIAGNOSTICADAS:

TRATAMENTOS ACTUAIS:

PROSTRAÇÃO: Sim Não

FERIDAS/CICATRIZES: Sim Não

SINAIS RESPIRATÓRIOS: Sim Não

ANOREXIA: Sim Não

SALIVAÇÃO: Sim Não

HALITOSE:      Sim      Não

FEZES: \_\_\_\_\_ URINA: \_\_\_\_\_

**Exame Estado Geral** 

---

CONDIÇÃO CORPORAL: \_\_\_\_\_

ESTADO DO PÊLO:   Brilhante   Baço   Falta de cuidado

FERIDAS:   Sim                   Não

HIDRATAÇÃO: \_\_\_\_\_ TRC: \_\_\_\_\_

MUCOSAS:   Rosadas   Pálidas   Cianóticas   Ictéricas

ÚLCERAS ORAIS:   Quantas \_\_\_\_\_  
                          Dimensão \_\_\_\_\_

GENGIVITE:   Sim   Não                                   TÁRTARO:   Sim   Não

ALTERAÇÕES OCULARES: \_\_\_\_\_

CORRIMENTO OCULAR:   Sim   Não   Tipo: \_\_\_\_\_

CORRIMENTO NASAL:   Sim   Não   Tipo: \_\_\_\_\_

OTITE: \_\_\_\_\_

LINFONODOS:   Normais   Aumentados   Quais? \_\_\_\_\_

AUSCULTAÇÃO CARDIACA: \_\_\_\_\_

AUSCULTAÇÃO PULMONAR: \_\_\_\_\_

PALPAÇÃO ABDOMINAL: \_\_\_\_\_

TEMPERATURA RECTAL: \_\_\_\_\_ PULSO: \_\_\_\_\_

---

**Exames Diagnóstico** 

---

ELISA FIV: \_\_\_\_\_

ELISA FeLV: \_\_\_\_\_

OUTROS: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

---

**Observações** 

---

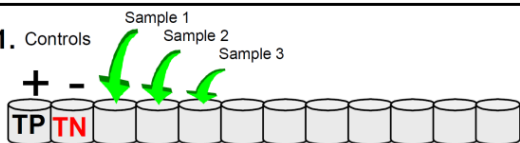
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

## Anexo 4: Protocolo do teste de diagnóstico ViraCHECK® FIV disponibilizado pelo fabricante.

# ViraCHECK® FIV TEST PROCEDURE

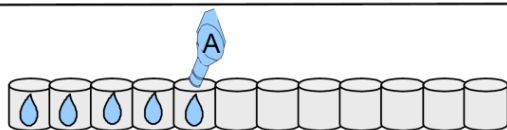
### A. SET UP AND CONJUGATE

#### 1. Controls



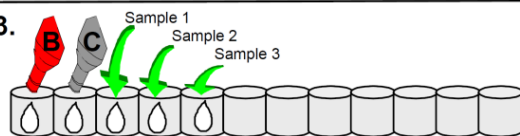
- Remove ~~the~~ plate in holder:
  - 1 well for positive control (+)
  - 1 well for negative control (-)
  - 1 well for each sample.
- Leave the wells attached to each other.

#### 2.



- Place 4 drops (160µl) of HRP FIV conjugate (Bottle A – Blue Cap) into each well.

#### 3.



- Place 1 drop (40µl) of positive control (Bottle B – Red Cap) into the first well;
- Follow with 1 drop (40µl) of negative control (Bottle C – Green Cap) into the second well.
- Add 10 µl of sample to appropriate wells using a micropipette. Change tip between each sample
- Tap holder several times (10-15 sec).
- Incubation: **10 minutes at room temperature (70°F- 78°F) (21°C – 25°C)**  
(if several specimens are run simultaneous, only one set of controls is needed)

### B. WASHING

#### 4.

##### Manual washing:

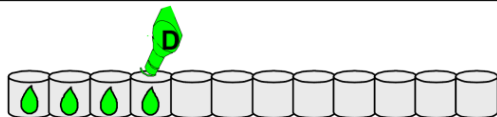
- empty the wells by inverting the holder and blotting onto a paper towel.
- wash the wells by filling them with the washing bottle to the edge with the solution of diluted washing buffer.
- empty the wells by inverting the holder and blotting onto a paper towel. **Repeat washing five (5) times**
- rinse once with distilled water in order to remove the bubbles, then invert the holder onto a paper towel.

##### Automatic washing:

- carry out a washing of 6 cycles with a washer of microplates ELISA. Think of filling open spaces of the holder with worn strips.

### C. REVELATION

#### 5.



- Place 2 drops (80µl) of substrate TMB blue (Bottle D – White Cap). Mix by gently tapping the holder several times
  - Incubation: **5 minutes**.
  - After incubation, slightly tap the holder during 5 seconds.
  - Read results immediately (visual or spectrometer).
- See interpretation of the Results Section

### D. RESULTS

#### 6.

##### • Visual reading:

The test is valid if the well of the positive control is blue and the negative control remains colorless.

\* Any sample presenting a coloring lower or identical to the negative control is **negative**.

\* Any sample presenting a coloring stronger than the negative control is **positive**.

##### • Spectrometer reading:

Measure the optical densities of the samples in double wavelength 630 nm - 450 nm.

The test is validated if the positive control has a value superior to 0,150

\* Any sample having an optical density lower or equal to 0,020 (or the optical density of the negative control if this one is higher than 0,020) is **negative**.

\* Any sample having an optical density higher than 0,020 (or with the optical density of the negative control if this one is higher than 0,020) is **positive**.

**ATTENTION:** The results should be interpreted immediately after the 5 minutes incubation period. Prolonged incubation may result in non-specific color development.

### GOOD TECHNIQUES = ACCURATE RESULTS

- Whole blood must be anti -coagulated with EDTA, heparin, citrate, etc.
- Hemolyzed and lipemic samples may be used however, severely hemolyzed and lipemic samples may produce background colour. When in doubt, obtain a better quality sample.
- Washing is the most important step. Microwells cannot be overwashed. Underwashing will result in colour development in the negative control and sample wells.
- Prolonged incubation for more than 5 minutes in step 6 may result in non-specific colour development. Read results at 5 minutes. If no colour is seen at 5 minutes, the sample is negative.
- Always compare results to the positive and negative controls.
- Do not use the test kit past the expiration date and do not intermix components from different serial numbers.
- Store kit at 2°-7° C (36°-45° F).
- Allow kit to come to room temperature before use.

Should you have any question, please contact us :

**SYNBIOTICS EUROPE**

Gerland Plaza - 23 rue Pierre Gilles de Gennes  
69007 LYON – France

Tel: +33 4.72.76.11.11 – Fax: +33 4.72.76.11.10

[www.synbiotics.com](http://www.synbiotics.com)

[techsupport@synbiotics.fr](mailto:techsupport@synbiotics.fr)

FOR VETERINARY USE ONLY /  
FOR IN VITRO USE ONLY

Manufacturer:

DELPHARM BIOTECH  
2 rue Alexander Fleming  
69366 Lyon Cedex 07  
France



Reference : CFIV3MN.NA version n°2 – 11/03/2013

The chapters modified since the last version are in italic type. Version n°1 → n°2/ Change of Synbiotics Europe address. Addition of the name and address of the manufacturer.

2/2

**Anexo 5: Protocolo do teste de diagnóstico ViraCHECK®/FeLV disponibilizado pelo fabricante.**

## ViraCHECK®/FeLV Test Procedure

**NOTE: Use Anticoagulated WHOLE BLOOD, PLASMA or SERUM Samples.**

*Prior to use, allow kit components to come to room temperature (21° to 25° C; 70° to 78° F).*

### A. PREPARATION

**1**

- Calculate required number of wells:
  - 1 well for positive control
  - 1 well for negative control
  - 1 well for each sample
- Remove required number of wells.
- Leave wells attached to each other.
- Place in well holder.

### 2 A. CONTROLS

- Add 1 drop **Positive Control** (red cap) into the first well.
- Add 1 drop **Negative Control** (gray cap) into the second well.

### B. SAMPLE(S)

- Pipette 50µl (0.05 ml) of sample into the next well following the controls.
- Repeat for each additional sample into subsequent wells.

**ONE WELL IS USED FOR EACH SAMPLE.**

**NOTE:** If an accurate pipette is unavailable, **0.05 ml is equal to:**

- 4 drops from a 20 gauge needle.
- 6 drops from a 22 gauge needle.
- 8 drops from a 24 gauge needle.
- 9 drops from a 25 gauge needle.
- 10 drops from a 26 gauge needle.

### B. CONJUGATE

**3**

- Add 1 drop **Reagent 1 - Conjugate** (blue cap) into each well.
- Tap well holder (without splashing) for **15 seconds** to mix.
- WAIT 5 MINUTES**

### C. BLOT AND WASH

**4**

- Discard fluid from wells into sink or appropriate container.
- Invert holder and blot firmly onto a paper towel to remove final drops.

**5**

**NORMAL SALINE MUST BE USED WITH WHOLE BLOOD SAMPLES**  
Deionized/distilled water or normal saline can be used with serum and plasma.

- FLUSH WELLS VIGOROUSLY:**
  - Use liberal amounts of distilled, deionized water or normal saline.
  - Direct a forceful stream into each well. (Oversplashing will not contaminate adjacent wells.)
  - Shake out excess water.
  - Repeat at least **5 times**. (It is impossible to overwash).
- If saline is used to wash wells use distilled/deionized water for final wash.
- Blot against a paper towel to dry wells.

### D. DEVELOP

**6**

- Add 2 drops **Reagent 2** (purple cap) to each well.
- Tap well holder (without splashing) for **15 seconds** to mix.
- WAIT 5 MINUTES.**

**READ RESULTS**

### E. INTERPRETATION OF RESULTS

**7**

**CONTROLS**

- POSITIVE** control should be distinctly blue.
- NEGATIVE** control should be completely clear.

**SAMPLES**

- POSITIVE** samples will be blue. Color intensity may vary with level of FeLV antigen present.
- NEGATIVE** samples will be clear. Compare directly with the negative control against a white background.

### GOOD TECHNIQUES = ACCURATE RESULTS

- Whole blood and plasma must contain anticoagulant.
- Hemolyzed and lipemic samples may be used, however, normal saline should be used in place of distilled or deionized water in step 5. Severely hemolyzed and lipemic samples may produce background color. When in doubt, obtain a better quality sample.
- Washing is the most important step. Microwells cannot be overwashed.** Underwashing will result in nonspecific blue color development in the negative control and sample wells.
- Remember! Use saline as the wash solution with whole blood samples.
- Prolonged incubation for more than 5 minutes in step 6 may result in non-specific color development. Read results at 5 minutes. If no color is seen at 5 minutes, the sample is negative.
- Do not use the test kit past the expiration date and do not intermix components from different serial numbers.
- Store kit at 2° to 7°C (36° to 45° F). Allow kit to come to room temperature before use.

**FOR TECHNICAL ASSISTANCE: 1-800-228-4305**



12200 NW AMBASSADOR DRIVE, SUITE 101, KANSAS CITY, MO 64163  
800-228-4305 (OR outside US/Canada 816-464-3500)

U.S. VET LIC NO. 312

03-0001-0909

**Anexo 6:** Base de dados dos 90 gatos investigados.

N.º da amostra	Local de captura	Colónia	Sexo	Castração	Comportamento	Condição Corporal	Estilo de Vida	Feridas	Mucosas	Prostração	Sinais respiratórios	Gengivo-estomatite	Linfonodos	Presença corrimentos	Corrimentos	Alterações oculares	ELISA FIV	ELISA FeLV
1	RG	Pi	M	N	A	M	E	S	R	S	N	N	H	N	N	N	P	P
2	VFC	Pc	M	N	A	I	E	S	R	N	N	S	N	S	O	N	N	N
3	VFC	Pc	F	S	A	I	E	S	R	N	S	S	N	N	N	N	N	N
4	VFC	Pc	F	S	N	I	E	S	R	N	N	N	N	N	N	N	N	N
5	VFC	Pc	F	S	A	M	E	S	R	N	N	S	N	N	N	N	N	N
6	VFC	Pc	M	N	N	M	E	S	R	N	N	S	H	N	N	N	P	N
7	VFC	Pc	M	N	N	M	E	N	R	N	N	S	H	N	N	N	P	N
8	VFC	Pc	F	S	A	M	E	N	R	N	N	S	H	N	N	N	N	N
9	VFC	Pc	F	S	AG	I	E	N	R	N	S	S	H	S	Na	N	N	N
10	VFC	Pc	F	S	AG	I	E	S	R	N	N	S	H	S	ON	N	N	N
11	PDL	AAR	F	N	AG	M	E	S	R	N	N	N	N	N	N	N	N	N
12	PDL	AAR	M	N	N	I	E	N	R	N	N	S	N	N	N	N	N	N
13	PDL	AAR	M	N	N	I	E	N	R	N	N	S	N	N	N	N	N	N
14	PDL	AAR	M	N	N	I	E	N	R	N	N	S	H	N	N	N	N	N
15	PDL	AAR	M	N	N	EX	E	N	R	N	N	S	H	N	N	N	P	N
16	PDL	AAR	M	N	N	I	E	N	R	N	N	S	H	N	N	N	P	N
17	PDL	AAR	F	N	N	I	E	N	R	N	N	S	N	N	N	N	N	N
18	PDL	CRO	F	N	AG	M	E	S	I	S	N	S	H	N	N	N	N	N
19	PDL	CRO	M	N	N	M	E	N	R	N	N	N	N	N	N	N	P	N
20	PDL	CRO	M	N	N	I	E	N	R	N	N	S	H	S	O	N	P	N
21	PDL	AAR	F	N	A	I	E	N	R	N	N	N	N	N	N	N	N	N
22	PDL	Pi	M	N	NA	MM	E	S	P	S	N	N	H	N	N	N	N	N
23	PDL	CRO	F	D	A	M	E	S	R	N	N	S	N	N	N	N	N	N
24	PDL	CRO	M	N	A	M	E	S	R	N	N	N	N	S	O	N	N	N
25	PDL	CRO	F	N	A	M	E	S	R	N	N	N	N	N	N	N	N	N
26	PDL	CRO	M	N	A	MM	E	S	R	S	N	N	N	N	N	N	N	N
27	PDL	CRO	F	D	A	M	E	S	R	N	N	N	N	S	O	N	N	N
28	PDL	CRO	F	D	A	M	E	S	R	N	N	N	N	N	N	N	N	N
29	PDL	CRO	F	D	A	M	E	N	R	N	N	S	N	N	N	N	N	N
30	PDL	Pi	F	N	A	M	E	N	R	N	N	N	N	N	N	N	N	N
31	PDL	CRO	M	N	AG	M	E	S	R	N	N	S	H	N	N	N	N	N
32	PDL	Pi	F	S	A	MM	E	N	P	S	N	N	N	N	N	S	N	N
33	RG	Pc	M	N	N	M	G	S	P	S	S	S	N	S	ON	N	N	N
34	RG	Pc	M	N	A	M	G	N	R	N	S	N	N	S	Na	N	N	N
35	RG	Pc	M	N	N	M	G	N	R	N	S	N	H	S	ON	N	N	N
36	RG	Pc	M	N	A	M	G	N	R	S	S	S	N	S	ON	S	N	N
37	PDL	CRO	F	D	N	MM	E	N	R	N	N	S	N	S	O	N	N	N
38	PDL	CRO	F	D	N	M	E	N	R	N	N	S	N	S	O	N	N	N
39	PDL	CRO	F	D	N	M	E	N	R	N	N	N	N	N	N	N	N	N
40	PDL	CRO	F	D	A	M	E	S	R	N	N	N	N	N	N	N	N	N
41	PDL	CRO	M	N	A	M	E	N	R	N	N	N	N	S	O	N	N	N
42	PDL	CRO	F	D	A	M	E	N	R	N	N	S	H	N	N	N	N	N
43	PDL	CRO	F	D	A	M	E	N	R	N	N	N	N	N	N	N	N	N
44	PDL	CRO	M	S	N	M	E	N	R	N	N	N	H	S	O	N	N	N
45	PDL	CRO	M	S	N	M	E	S	I	N	N	S	N	S	O	N	N	N

(continuação do Anexo 6)

N.º da amostra	Local de captura	Colónia	Sexo	Castração	Comportamento	Condição Corporal	Estilo de Vida	Feridas	Mucosas	Prostração	Sinais respiratórios	Gengivo-estomatite	Linfonodos	Presença corrimentos	Corrimentos	Alterações oculares	ELISA FIV	ELISA FeLV
46	PDL	CRO	M	N	N	M	E	N	R	N	N	S	H	S	O	S	N	N
47	PDL	CRO	M	N	N	M	E	N	R	N	N	N	H	S	O	N	N	N
48	PDL	CRO	M	N	N	MM	E	N	R	N	N	N	N	S	O	N	N	N
49	PDL	CRO	M	N	N	M	E	N	R	S	N	N	H	N	N	N	N	N
50	PDL	CRO	F	D	N	M	E	N	P	S	N	N	N	N	N	N	N	N
51	PDL	CRO	M	N	N	MM	E	N	P	S	N	N	N	N	N	N	N	N
52	PDL	CRO	F	D	N	M	E	N	P	S	N	N	N	N	N	N	N	N
53	PDL	CRO	F	D	N	I	E	N	P	S	N	N	N	N	N	N	N	N
54	PDL	CRO	F	D	N	I	E	N	P	S	N	N	N	N	N	S	N	N
55	PDL	AAR	M	N	AG	I	E	S	R	N	N	N	N	N	N	N	N	N
56	PDL	AAR	M	N	AG	I	E	S	R	N	N	N	N	N	N	N	N	N
57	PDL	AAR	M	N	AG	I	E	S	R	N	N	N	N	N	N	N	N	N
58	PDL	CRO	M	N	N	M	E	S	R	N	N	S	N	N	N	N	N	N
59	PDL	CRO	M	N	N	M	E	S	R	N	N	S	N	N	N	N	N	N
60	PDL	CRO	F	D	N	M	E	N	R	N	N	S	N	N	N	N	N	N
61	PDL	CRO	F	D	N	M	E	N	R	N	N	S	N	N	N	N	N	N
62	PDL	AAR	F	N	A	I	E	N	R	N	N	N	N	N	N	N	N	N
63	PDL	AAR	F	N	A	I	E	N	R	N	N	N	N	N	N	N	N	N
64	PDL	CRO	M	N	N	M	E	S	R	N	N	S	N	S	O	N	N	N
65	PDL	CRO	M	N	N	M	E	S	R	N	N	S	N	S	O	N	N	N
66	PDL	CRO	M	N	N	M	E	S	R	N	N	S	N	N	N	N	N	N
67	PDL	CRO	F	D	N	M	E	S	R	N	N	N	N	N	N	N	N	N
68	PDL	CRO	F	D	N	MM	E	N	R	N	N	N	H	S	O	N	N	N
69	PDL	CRO	F	D	N	M	E	N	R	N	N	N	N	N	N	N	N	N
70	PDL	CRO	F	D	N	M	E	S	R	N	N	S	N	S	O	N	N	N
71	PDL	AAR	F	N	AG	M	E	N	R	N	S	S	H	N	N	N	N	N
72	PDL	AAR	M	N	AG	I	E	N	R	N	S	S	N	N	N	N	N	N
73	PDL	AAR	M	N	AG	M	E	S	R	N	S	S	N	S	Na	N	P	N
74	PDL	AAR	M	S	AG	EX	E	N	R	N	S	S	N	S	Na	N	N	N
75	PDL	CRO	M	N	N	M	E	S	R	N	N	S	N	N	N	N	N	N
76	PDL	CRO	M	N	N	M	E	N	R	N	N	S	N	N	N	N	N	N
77	PDL	CRO	M	N	N	I	E	N	R	N	N	N	N	N	N	N	P	N
78	PDL	AVIGEX	M	N	AG	I	A	S	R	N	N	N	N	N	N	N	N	N
79	PDL	AVIGEX	F	N	AG	I	A	N	R	N	N	N	N	N	N	N	P	N
80	PDL	AVIGEX	F	N	AG	I	A	N	R	N	N	N	N	N	N	N	N	N
81	PDL	AVIGEX	M	N	AG	I	A	S	R	N	N	S	H	N	N	N	N	N
82	PDL	AVIGEX	M	N	AG	I	A	N	R	N	N	S	N	N	N	N	P	P
83	PDL	CRO	M	N	NA	I	E	N	P	S	S	S	H	N	N	N	N	N
84	PDL	AVIGEX	M	N	AG	I	A	N	R	N	N	S	N	N	N	N	N	N
85	PDL	AVIGEX	F	N	AG	I	A	N	R	N	N	S	H	N	N	N	N	N
86	PDL	AVIGEX	F	N	AG	I	A	S	R	N	N	S	N	N	N	N	P	N
87	PDL	AAR	F	N	A	I	E	N	R	N	N	S	H	N	N	N	N	N
88	PDL	AAR	M	N	A	I	E	N	R	N	N	S	N	N	N	N	N	N
89	PDL	AVIGEX	M	N	AG	I	A	N	R	N	N	S	H	N	N	N	N	N
90	PDL	AVIGEX	M	N	AG	I	A	N	R	N	N	S	H	N	N	N	N	N

## **Legenda da base de dados**

Local de captura: RG – concelho da Ribeira Grande; VFC – concelho de Vila Franca do Campo; PDL – concelho de Ponta Delgada

Colónia: Pi – proprietário individual; Pc – proprietário de colónias; CRO – Centro de Recolha Oficial de Animais de Companhia de Ponta Delgada; AAR – Associação Animais de Rua

Sexo: M – macho; F – fêmea

Castração: S – sim; N – Não; D – desconhecida

Comportamento: A – amigável; N – nervoso; AG – agressivo; NA – não avaliado

Condição corporal: MM – muito magro; M – magro; I – ideal; EX – excesso de peso

Estilo de vida: E – errante; G – gatil; A – assilvestrado

Feridas: S – sim; N – não

Mucosas: R – rosadas; P – pálidas; I – ictéricas

Prostração: S – sim; N – não

Sinais respiratórios: S – sim; N – não

Gengivo-estomatite: S – sim; N – não

Linfonodos: H – hipertrofiados; N - normais

Presença de corrimentos: S – sim; N – não

Corrimentos: N – não; O – oculares; Na – Nasais; ON – oculares e nasais

Alterações oculares: S – sim; N – não

ELISA FIV: P – positivo; N – negativo

ELISA FeLV: P – positivo; N – negativo

## Anexo 7: Tabelas de contingência de todas as variáveis testadas

### Variável Sexo:

SEXO \ FIV	+	-	n	
Macho	10 (20,4%)	39 (79,6%)	49	$\chi^2$ (Mantel-Haenszel) = 4,61 $p$ (Fisher exact) = 0,06
Fêmea	2 (4,8%)	39 (95,1%)	41	
Total	12	78	90	

Conclusão: a diferença observada na maior frequência de FIV em gatos machos deve ser atribuída ao acaso. Porém, considerando o valor de  $p$ , o facto de não ter sido possível evidenciar associação estatística entre a variável sexo e a ocorrência de FIV, pode dever-se ao número muito diminuto de fêmeas detetadas com infecção ( $n=2$ ). Caso o tamanho da amostra fosse maior, esta associação poderia eventualmente ter sido confirmada como está publicado na literatura.

### Variável Condição-Corporal (CC):

CC \ FIV	+	-	n	
Muito magro e Magro	5 (9,3%)	49 (90,7%)	54	$\chi^2$ (Mantel-Haenszel) = 1,92 $p = 0,17$
Ideal e Excesso de peso	7 (19,4%)	29 (80,6%)	36	
Total	12	78	90	

Conclusão: a maior frequência de FIV em gatos com condição corporal ideal ou com excesso de peso relativamente aos gatos muito magros ou magros (19,4% *versus* 9,3%) deve ser atribuída ao acaso.

### Variável Castração:

CASTRAÇÃO \ FIV	+	-	n	
Macho castrado	0 (0%)	3 (100%)	3	$\chi^2$ (Mantel-Haenszel) = 0,80 $p$ (Fisher exact) = 0,37
Macho inteiro	10 (21,7%)	36 (78,3%)	46	
Total	10	39	49	

Conclusão: o facto de não ter sido possível evidenciar associação estatística entre a variável castração em machos e a ocorrência de FIV, pode dever-se à ausência de casos de FIV nos gatos castrados da amostra. Caso o tamanho da amostra fosse maior, esta associação poderia eventualmente ter sido confirmada pois está publicado na literatura que os gatos inteiros têm uma maior frequência de FIV.



<b>CASTRACÃO \ FIV</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>n</b>	
Fêmea castrada	0 (0%)	7 (100%)	7	$\chi^2$ (Mantel-Haenszel) = 1,05 $p$ (Fisher exact) = 0,31
Fêmea inteira	2 (14,3%)	12 (85,7%)	14	
Total	2	19	21	

Conclusão: o facto de não ter sido possível evidenciar associação estatística entre a variável castração em fêmeas e a ocorrência de FIV, pode dever-se à ausência de casos de FIV nas gatas castradas da amostra. Caso o tamanho da amostra fosse maior, esta associação poderia eventualmente ter sido confirmada pois está publicado na literatura que as gatas inteiras têm uma maior frequência de FIV.

#### Variável Comportamento:

<b>COMPORTAMENTO \ FIV</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>n</b>	
Agressivo ou Nervoso	11 (17,5%)	52 (85,5%)	63	$\chi^2$ (Mantel-Haenszel) = 2,72 $p$ (Fisher exact) = 0,17
Amistoso	1 (4%)	24 (96%)	25	
Total	12	76	88	

Conclusão: a diferença observada na maior frequência de FIV em gatos agressivos ou nervosos do que em gatos amistosos, face à presença de pessoas estranhas (17,5% *versus* 4%) deve ser atribuída ao acaso, segundo os dados obtidos na amostra estudada. A hipótese de que os gatos agressivos ou nervosos pudessem envolver-se em mais lutas, nas quais poderiam ser mordidos e, conseqüentemente, contrair FIV não foi demonstrada nesta investigação. Foi excluído da amostra 2 gatos por não ter sido possível avaliar o comportamento devido a estarem prostrados.

#### Variável Condição de Vida:

<b>CONDIÇÃO DE VIDA \ FIV</b>	<b>+</b>	<b>-</b>	<b>n</b>	
c/ acesso ao exterior	12 (14%)	74 (86%)	86	$\chi^2$ (Mantel-Haenszel) = 0,73 $p$ (Fisher exact) = 0,39
s/ acesso ao exterior	0 (0%)	4 (100%)	4	
Total	12	78	90	

Conclusão: a diferença observada na maior frequência de FIV em gatos com acesso ao exterior (errantes + assilvestrados) deve ser atribuída ao acaso. A ausência de casos de FIV em gatos mantidos de forma permanente no interior das habitações não permitiu evidenciar associação estatística entre a variável estilo de vida e a ocorrência de FIV, apesar de estar publicado na literatura que o acesso ao exterior é um fator de risco.

### Variável Presença de Feridas:

FERIDAS \ FIV			n	
	+	-		
Sim	4 (11,4%)	31 (88,6%)	35	$\chi^2$ (Mantel-Haenszel) = 0,18 $p$ (Fisher exact) = 0,67
Não	8(14,6%)	47(85,4%)	55	
Total	12	78	90	

Conclusão: a diferença observada na maior frequência de FIV em gatos sem feridas (14,6% *versus* 11,4%) deve ser atribuída ao acaso. O facto de não ter sido possível evidenciar associação estatística entre a variável presença de feridas e a ocorrência de FIV, pode dever-se ao número muito diminuto de animais com feridas e infeção (n=4). Caso o tamanho da amostra fosse maior, esta associação poderia eventualmente ter sido confirmada.

### Variável Cor das Mucosas:

MUCOSAS \ FIV			n	
	+	-		
Rosadas	12 (15,2%)	67 (84,8%)	79	$\chi^2$ (Mantel-Haenszel) = 1,91 $p$ (Fisher exact) = 0,35
Ictéricas ou Pálidas	0 (0%)	11 (100%)	11	
Total	12	78	90	

Conclusão: a diferença observada na maior frequência de FIV em gatos com as mucosas rosadas (15,2% *versus* 0%) deve ser atribuída ao acaso. A ausência de casos de FIV em gatos com mucosas pálidas ou ictéricas, não permitiu evidenciar associação estatística entre a variável cor das mucosas e a ocorrência de FIV.

### Variável Presença de Prostração:

PROSTRAÇÃO \ FIV			n	
	+	-		
Sim	1 (7,1%)	13 (92,9%)	14	$\chi^2$ (Mantel-Haenszel) = 0,54 $p$ (Fisher exact) = 0,68
Não	11 (14,5%)	65 (85,5%)	76	
Total	12	78	90	

Conclusão: a diferença observada na maior frequência de FIV em gatos sem prostração (14,5% *versus* 7,1%) deve ser atribuída ao acaso. O facto de não ter sido possível evidenciar associação estatística entre a variável presença de prostração e a ocorrência de FIV, pode dever-se ao número muito diminuto de animais FIV positivos com prostração (n=1). Caso o tamanho da amostra fosse maior, esta associação poderia eventualmente ter sido confirmada.

#### Variável Presença de Sinais Respiratórios:

SINAIS RESPIRATÓRIOS \ FIV	FIV		n	
	+	-		
Sim	1 (9,1%)	10 (90,9%)	11	$\chi^2$ (Mantel-Haenszel) = 0,19 $p$ (Fisher exact) = 1,00
Não	11 (13,9%)	68 (86,1%)	79	
Total	12	78	90	

Conclusão: a diferença observada na maior frequência de FIV em gatos sem sinais respiratórios (13,9% *versus* 9,1%) deve ser atribuída ao acaso. O facto de não ter sido possível evidenciar associação estatística entre a variável presença de sinais respiratórios e a ocorrência de FIV, pode dever-se ao número muito reduzido de animais FIV positivos com sinais respiratórios (n=1). Caso o tamanho da amostra fosse maior, esta associação poderia eventualmente ter sido confirmada como vem descrito na literatura.

#### Variável Presença de Sinais de Gengivo-estomatite:

GENGIVO-ESTOMATITE \ FIV	FIV		n	
	+	-		
Sim	8 (16%)	42 (84%)	50	$\chi^2$ (Mantel-Haenszel)=0,68 $p$ (Fisher exact) = 0,54
Não	4 (10%)	36 (90%)	40	
Total	12	78	90	

Conclusão: a diferença observada na maior frequência de FIV em gatos com sinais de gengivo-estomatite (16% *versus* 10%) deve ser atribuída ao acaso. Porém, o facto de não ter sido possível evidenciar associação estatística entre a variável presença de sinais de gengivo-estomatite e a ocorrência de FIV, pode dever-se ao número muito diminuto de animais com FIV sem gengivo-estomatite (n=4). Caso o tamanho da amostra fosse maior, esta associação poderia eventualmente ter sido confirmada como está publicado na literatura que os gatos FIV positivos têm maior probabilidade de contrair gengivo-estomatite crónica.

#### Variável Presença de Linfonodos Hipertrofiados:

LINFONODOS \ FIV	FIV		n	
	+	-		
Sim	6 (22,2%)	21 (77,8%)	27	$\chi^2$ (Mantel-Haenszel)= 2,61 $p$ = 0,11
Não	6 (9,5%)	57 (90,5%)	63	
Total	12	78	90	

Conclusão: a diferença observada na maior frequência de FIV em gatos com linfonodos superficiais hipertrofiados (22,2% *versus* 9,5%) deve ser atribuída ao acaso. O facto de não

ter sido possível evidenciar associação estatística entre a variável presença de linfonodos hipertrofiados e a ocorrência de FIV, pode dever-se ao tamanho da amostra, que se fosse maior, esta associação poderia eventualmente ter sido confirmada.

#### Variável Presença de Corrimentos:

	FIV	+	-	n	
CORRIMENTOS					
Sim		2 (8,3%)	22 (91,7%)	24	$\chi^2$ (Mantel-Haenszel)= 0,70 $p$ (Fisher exact) = 0,50
Não		10 (15,2%)	56 (84,8%)	66	
Total		12	78	90	

Conclusão: a diferença observada na maior frequência de FIV em gatos sem presença de corrimentos oculares e/ou nasais (15,2% *versus* 8,3%) deve ser atribuída ao acaso. O facto de não ter sido possível evidenciar associação estatística entre a variável presença de corrimentos ocular e/ou nasal e a ocorrência de FIV, pode dever-se ao número muito diminuto de animais FIV positivos com presença de corrimentos (n=2). Caso o tamanho da amostra fosse maior, esta associação poderia eventualmente ter sido confirmada.

#### Variável Alterações Oculares:

	FIV	+	-	n	
ALTERAÇÕES OCULARES					
Sim		0 (0%)	4 (100%)	4	$\chi^2$ (Mantel-Haenszel)=0,64 $p$ (Fisher exact) = 1,00
Não		12 (14%)	74 (86%)	86	
Total		12	78	90	

Conclusão: a diferença observada na maior frequência de FIV em gatos sem alterações oculares (14% *versus* 0%) deve ser atribuída ao acaso. O facto de não ter sido possível evidenciar associação estatística entre a variável presença de alterações oculares e a ocorrência de FIV, pode dever-se à ausência de animais FIV positivos com presença alterações oculares (n=0). Caso o tamanho da amostra fosse maior, esta associação poderia eventualmente ter sido confirmada